

UNIVERSIDAD NACIONAL DE PIURA
FACULTAD DE CIENCIAS
ESCUELA PROFESIONAL DE CIENCIAS BIOLÓGICAS



**“ENTEROBACTERIAS PRODUCTORAS DE BETALACTAMASAS
AmpC Y DE ESPECTRO EXTENDIDO AISLADAS EN EL HOSPITAL
UNIVERSITARIO DE LA UNIVERSIDAD NACIONAL DE PIURA,
PERÚ”**

PRESENTADA POR:

Br. ANLLELA CRUZ DEDIOS PERICHE

PARA OPTAR EL TÍTULO DE BIÓLOGO

Línea de investigación: SALUD PÚBLICA


PIURA-PERÚ

2018

UNIVERSIDAD NACIONAL DE PIURA
FACULTAD DE CIENCIAS
ESCUELA PROFESIONAL DE CIENCIAS BIOLÓGICAS

“Enterobacterias productoras de betalactamasas AmpC y de espectro extendido aisladas en
el Hospital Universitario de la Universidad Nacional de Piura, Perú”

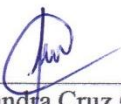
LINEA DE INVESTIGACIÓN: SALUD PÚBLICA



Bach. Anllela Cruz Dedios Periche
Autor



Mchgo. Jaime Fernández Ponce
Asesor



Blga. Sandra Cruz Guerrero
Coasesor

DECLARACIÓN JURADA DE ORIGINALIDAD DE TESIS

Yo: ANLLELA CRUZ DEDIOS PERICHE, identificada con DNI N° 47740125, Bachiller de la Escuela Profesional de Ciencias Biológicas, de la Facultad de Ciencias y domiciliado en calle Buenos Aires 427 del distrito de Sechura, Provincia de Sechura, departamento de Piura, celular 979686641, email: anllelal.93@gmail.com.

DECLARO BAJO JURAMENTO: que la tesis que presento es original e inédita, no siendo copia parcial ni total de una tesis desarrollada y/o realizada en el Perú o en el extranjero, en caso contrario de resultar falsa la información que proporciono, me sujeto a los alcances de lo establecido en el Art. N° 411, del código Penal concordante con el Art. 32° de la Ley N°27444 y Ley del Procedimiento Administrativo General y las Normas Legales de Protección a los Derechos de autor.

En fe de lo cual firmo la presente

Piura 25 de enero del 2019

DNI: 47740125

En fe de lo cual firmo la presente

Derechos de autor

El que, en un procedimiento administrativo, hace una falsa declaración en relación con hechos o circunstancias que le corresponde probar, violando la presunción de veracidad establecida por ley, será reprimido con pena privativa de libertad no menor de una ni mayor de cuatro años.

Art. 4. Inciso 4.12 del reglamento Nacional de trabajos de investigación para optar grados académicos y títulos profesionales- RENATI de Consejo Directivo N° 033-2016-SUNEDU/CD.

Yo: ANLLELA CRUZ DEDIOS PERICHE, identificada con DNI N° 47740125, Bachiller de la

UNIVERSIDAD NACIONAL DE PIURA
FACULTAD DE CIENCIAS
ESCUELA PROFESIONAL DE CIENCIAS BIOLÓGICAS

“Enterobacterias productoras de betalactamasas AmpC y de espectro extendido aisladas en
el Hospital Universitario de la Universidad Nacional de Piura, Perú”

LINEA DE INVESTIGACIÓN: SALUD PÚBLICA



Mcblgo. María Dorothy Torres Gallo MSc.
Presidente de Jurado



Mcblgo. César Augusto Torres Díaz, MSc.
Secretario de Jurado



Dr. Carlos Enrique Holguín Mauricci
Vocal de Jurado



UNIVERSIDAD NACIONAL DE PIURA FACULTAD DE CIENCIAS



"AÑO DEL DIALOGO Y LA RECONCILIACIÓN NACIONAL"

ACTA DE SUSTENTACIÓN 070-2018-D-FC-UNP

FACULTAD DE CIENCIAS

Los Miembros del Jurado Calificador que suscriben, reunidos para evaluar la Tesis denominada **"ENTEROBACTERIAS PRODUCTORAS DE BETALACTAMASAS AmpC Y DE ESPECTRO EXTENDIDO AISLADAS EN EL HOSPITAL UNIVERSITARIO DE LA UNIVERSIDAD NACIONAL DE PIURA, PERÚ"**, presentada por la señorita Bachiller **ANLELA CRUZ DEDIOS PERICHE**, con el asesoramiento del **McBlo. Jaime Napoleón Fernández Ponce, M.Sc.** y Co-asesor **Blga. Sandra Cruz Guerrero**; oídas las observaciones y respuestas a las preguntas formuladas, y de conformidad al Reglamento de Tesis para obtener el Título Profesional en la Facultad de Ciencias, lo declaran:

APROBADA (Y)

DESAPROBADA ()

Con la mención de:

MUY BUENO

(X) En consecuencia, queda en condición de ser ratificado por el Consejo de Facultad de Ciencias de la Universidad Nacional de Piura, y recibir el **TÍTULO PROFESIONAL DE BIOLÓGO**.

() En consecuencia, queda en condición de ser ratificado por el Consejo Universitario de la Universidad Nacional de Piura, y recibir el **TÍTULO PROFESIONAL DE BIOLÓGO**; después que el sustentante incorpore la sugerencia del Jurado Calificador.

Piura, 14 diciembre del 2018.

UNP

McBlgo. **MARÍA DOROTHY TORRES DE LEÓN, M.Sc.**
PRESIDENTE DE JURADO DE TESIS

McBlgo. **CÉSAR AUGUSTO TORRES DÍAZ, MSc.**
SECRETARIO DE JURADO DE TESIS

Dr. **CARLOS ENRIQUE HOLGUÍN MAURICCI**
VOCAL DE JURADO DE TESIS



Campus Universitario - Urb. Miraflores S/N. Castilla
PIURA - PERU

DEDICATORIA

En primer lugar, a Dios, mi creador, quien hace mi vida posible y llena de amor a mi corazón.

A mis padres y hermanos, por ser mi soporte, brindarme su amor y apoyo incondicionales.

AGRADECIMIENTO

Mi sincero agradecimiento al Laboratorio Bioanálisis, por el apoyo brindado en infraestructura, equipos y materiales.

Al Hospital Universitario, por permitir el uso de sus instalaciones y equipos.

A mi asesor Mtblgo. Jaime Fernández Ponce, por su colaboración, comprensión y enseñanzas.

A mi coasesora Blga. Sandra Cruz Guerrero, por brindarme su apoyo incondicional, y por las facilidades brindadas.

ÍNDICE GENERAL

RESUMEN.....	xi
ABSTRACT.....	xii
I- INTRODUCCIÓN.....	1
II- MATERIAL Y MÉTODOS.....	13
2.1 Área de estudio.....	13
2.2 Métodos.....	13
2.2.1 Población.....	13
2.2.2 Tamaño de la Muestra.....	13
2.2.3 Obtención y recepción de la muestra.....	14
2.2.4 Aislamiento e identificación de cepas.....	14
2.2.5 Detección fenotípica de AmpC.....	16
2.2.6 Detección fenotípica de BLEE.....	17
2.2.6.1 Test de tamizaje para detección de BLEE.....	17
2.2.6.2 Confirmación del fenotipo BLEE.....	18
2.3. Análisis de datos.....	18
III- RESULTADOS.....	19
IV- DISCUSIÓN.....	23
V- CONCLUSIÓN.....	29
VI- RECOMENDACIONES.....	30
VII- REFERENCIAS BIBLIOGRAFICAS.....	31
ANEXOS.....	41

Índice de tablas

Tabla 3.1. Frecuencia de especies de enterobacterias productoras de AmpC aisladas en muestras de pacientes del Hospital Universitario, enero a junio de 2018.....	20
Tabla 3.2. Frecuencia de especies de enterobacterias productoras de β -lactamasas de espectro extendido, aisladas en muestras de pacientes del Hospital Universitario, enero a junio de 2018.....	20
Tabla 3.3. Frecuencia de enterobacterias productoras de AmpC según el área de procedencia de la muestra en el Hospital Universitario, enero a junio de 2018.....	22
Tabla 3.4. Frecuencia de enterobacterias productoras de β -lactamasas de espectro extendido según el área de procedencia de la muestra en el Hospital Universitario, enero a junio de 2018.....	22

Índice de gráficos

GRÁFICO 3.1 Frecuencia de enterobacterias productoras de betalactamasas AmpC de pacientes del Hospital Universitario. Enero a junio 2018.....	19
GRÁFICO 3.2 Frecuencia de enterobacterias productoras de β -lactamasas de espectro extendido de pacientes del Hospital Universitario. Enero a junio 2018.....	19
Gráfico 3.3. Frecuencia de enterobacterias productoras de AmpC de acuerdo al género y grupo etario de los pacientes del Hospital Universitario, enero a junio 2018.....	21
Gráfico 3.4. Frecuencia de enterobacterias productoras de β -lactamasas de espectro extendido de acuerdo al género y grupo etario de los pacientes del Hospital Universitario, enero a junio de 2018.....	21

Índice de anexos

ANEXO 1: Imágenes de la detección de betalactamasas AmpC mediante métodos fenotípicos.....	42
ANEXO 2: Imágenes de test de tamizaje para detección de betalactamasas de espectro extendido (BLEE).....	43
ANEXO 3: Imágenes de confirmación de fenotipo BLEE mediante método de Jarlier o sinergia de doble disco.....	44
ANEXO 4: Resultados generales de las cepas en estudio.....	47
ANEXO 5: cálculo de chi-cuadrado.....	48
ANEXO 6: Área de estudio.....	49
ANEXO 7: Cepas, aislamiento e identificación.....	50
ANEXO 8: Recepción de muestras y proceso.....	51
ANEXO 9: Datos de las cepas en estudio.....	53
ANEXO 10: Diámetros de los halos de inhibición del test de tamizaje para detección de BLEE.....	54
ANEXO 11: Clasificación de las betalactamasas.....	60

RESUMEN

Se determinó la frecuencia de enterobacterias productoras de betalactamasas AmpC y de espectro extendido en muestras de orina procedentes de pacientes del Hospital Universitario de la Universidad Nacional de Piura, recolectados durante los meses de enero a junio de 2018. Las muestras fueron colectadas en envases estériles, se sembraron en agar McConkey y se incubaron a 37°C durante 24 horas. Se aislaron un total de 139 cepas de enterobacterias procedentes de las muestras urinarias, de los cuales 21 provinieron del área de emergencias, 11 de hospitalización y 107 de atención ambulatoria. Se realizó la identificación bioquímica de las bacterias aisladas, y se determinó las cepas productoras de betalactamasas AmpC y de espectro extendido mediante métodos fenotípicos. La frecuencia total de enterobacterias productoras de betalactamasas AmpC fue de 2.16% y de espectro extendido, de 14.39%. De los aislamientos de enterobacterias se detectaron 20 cultivos productores de betalactamasas de espectro extendido, de los cuales 16 fueron de *Escherichia coli* (11.5%) y 4 de *Klebsiella pneumoniae* (2.8%); en tanto se encontró tres cultivos productores de AmpC, dos de *Klebsiella pneumoniae* (1.44%) y uno de *Escherichia coli* (0.72%).

Palabras claves: Enterobacterias, betalactamasas AmpC, betalactamasas de espectro extendido.

ABSTRACT

The frequency of enterobacteria producing AmpC and extended spectrum beta-lactamase was determined in urine samples from patients of the University Hospital of the National University of Piura, collected during the months of January to June 2018. The samples were collected in sterile containers, they were seeded on McConkey agar and incubated at 37 ° C for 24 hours. A total of 139 strains of enterobacteria were isolated from the urinary samples, of which 21 came from the emergency area, 11 from hospitalization and 107 from ambulatory care. The biochemical identification of the isolated bacteria was carried out, and AmpC and extended spectrum betalactamase producing strains were determined by phenotypic methods. The total frequency of enterobacteria producing beta-lactamase AmpC was 2.16% and extended spectrum, 14.39%. Of the isolates of enterobacteria were detected 20 cultures producing betalactamasas extended spectrum, of which 16 were of *Escherichia coli* (11.5%) and 4 of *Klebsiella pneumoniae* (2.8%); while it was found three crops producing AmpC, two of *Klebsiella pneumoniae* (1.44%) and one of *Escherichia coli* (0.72%).

Key words: Enterobacteria, beta-lactamases AmpC, extended-spectrum beta-lactamases.

I. INTRODUCCIÓN

La familia *Enterobacteriaceae* constituye un grupo numeroso y diverso de bacterias gramnegativas. Por la localización habitual como saprofitos en el tubo digestivo se les denomina como enterobacterias, aunque son ubicuos, encontrándose en el suelo, el agua y la vegetación, así como formando parte de la flora intestinal normal de muchos animales además del hombre (Puerta-García & Mateos-Rodríguez, 2010).

En general, el tamaño de las enterobacterias varía de 0,5 a 2 μm de ancho y de 2 a 4 μm de largo, no forman esporas, pueden ser móviles (con flagelos peritricos) o inmóviles, oxidasa negativa, catalasa positiva, reducen los nitratos a nitritos y fermentan la glucosa, y también degradan un amplio conjunto de otros carbohidratos. Las diferencias metabólicas han servido clásicamente para establecer los criterios para la determinación de las especies (identificación bioquímica). Las fimbrias o pili están presentes en casi todas las especies y son responsables de la fijación de las células bacterianas a las células humanas o actúan como receptores de bacteriófagos (Almirante, 2002; Koneman, Allen, Jande y Schreckenberger, 2008).

Hay colonización por *Enterobacteriaceae*, en el tubo digestivo, en la orofaringe, el aparato genitourinario y la piel. Diferentes factores han contribuido al incremento de las infecciones por enterobacterias en hospitales tales como el uso cada vez mayor de técnicas diagnósticas y terapéuticas agresivas (catéteres intravenosos, endoscopias, intervenciones), el empleo de potentes inmunosupresores y las estancias hospitalarias prolongadas, entre otros (Puerta-García & Mateos-Rodríguez, 2010).

Las enterobacterias son el mayor componente de la flora normal intestinal, pero son poco frecuentes en otros sitios del organismo; algunos organismos se asocian siempre con enfermedad mientras que otros como *E. coli*, *Klebsiella pneumoniae* y *Proteus mirabilis* forman parte de la flora comensal y pueden causar infecciones oportunistas en determinadas circunstancias (Llenque y Acevedo, 2012).

Los miembros clínicamente importantes de la familia *Enterobacteriaceae* pueden considerarse en dos grupos: los patógenos oportunistas y los patógenos manifiestos. *Salmonella typhi*, las especies de *Shigella* y *Yersinia pestis* encuentran en este último grupo y son los agentes causales de la fiebre tifoidea, la disentería y la “peste negra”, respectivamente. Los patógenos oportunistas más frecuentes

son las especies de *Citrobacter*, *Enterobacter*, *Klebsiella*, *Proteus* y *Serratia*. Aunque se los considera patógenos oportunistas, estos microorganismos producen factores de virulencia importantes, como endotoxinas, que pueden mediar infecciones mortales. Sin embargo, como por lo general no producen enfermedad en los huéspedes humanos sanos, se consideran oportunistas (Forbes, Sahm y Weissfeld, 2007).

E. coli es un habitante normal del intestino, su clasificación como patógeno se encuentra entre la de patógeno manifiesto y microorganismo oportunista. Además, es probable que, como la causa principal de infecciones nosocomiales entre las Enterobacteriaceae, *E. coli* sea más virulenta que las otras especies clasificadas como “oportunistas”. Se han descrito seis patotipos de *E. coli* involucrados en procesos diarreicos, mediante la identificación de factores de virulencia y mecanismos de patogenicidad. *E. coli* enteropatógena (ECEP), *E. coli* enterotoxigénica (ECET), *E. coli* enteroinvasora (ECEI), *E. coli* shigatoxigénica (ECST), *E. coli* enteroagregativa (ECEA), *E. coli* adherente difusa (ECAD) y *E. coli* adherente invasora (ECAI). *Escherichia coli* enteropatógena es el patotipo más asociado a diarrea en lactantes y algunas veces se asocia a vómito y fiebre. *Escherichia coli* enteroinvasora es de importancia en niños sobre seis meses de edad, su manifestación general es diarrea y en ocasiones va acompañada de sangre y moco. *Escherichia coli* enterotoxigénica tiene mayor frecuencia en niños bajo dos años, la diarrea puede acompañarse de fiebre y algunas veces vómito y es el principal agente causal de la diarrea acuosa del viajero seguido por ECEA y otras etiologías como *Salmonella spp*, *Shigella spp* o *Campylobacter jejuni*. *Escherichia coli* enteroagregativa suele causar diarrea persistente de un color verde característico y con presencia de moco. La diarrea acuosa causada por ECAD se presenta sin sangre, en niños que van desde el año hasta los cinco años de edad. Y, por último, ECST, que causa dolor abdominal, diarrea sanguinolenta y poca fiebre, es el principal agente etiológico asociado al síndrome hemolítico urémico, caracterizado por daño renal, anemia hemolítica microangiopática y trombocitopenia. En los casos más graves puede causar complicaciones del sistema nervioso central (Forbes, Sahm y Weissfeld, 2007; Farfán, Ariza, Vargas y Vargas, 2016).

Klebsiella spp. es ubicua en la naturaleza, de tal forma que se encuentra en las superficies de las aguas, tierra y plantas, así como en algunas de las mucosas de mamíferos como los humanos, los caballos y los cerdos; en el humano se encuentra específicamente en la mucosa de nasofaringe y del intestino. *Klebsiella pneumoniae*, se encuentra en las heces de los individuos sanos (5 a 10%), es la segunda especie después de *E. coli* más común del tracto urinario. Los principales reservorios para la

transmisión de la bacteria en el ambiente hospitalario son el tracto gastrointestinal de los pacientes y las manos del personal al cuidado de ellos (López y Echevarri, 2010; Colquechagua y Gónzales, 2014).

La pared celular de las enterobacterias está compuesta por mureína o peptidoglucano, lipoproteínas, fosfolípidos, proteínas y lipopolisacáridos, y tiene una disposición multilaminar. La capa de lipoproteína - mureína constituye alrededor del 20% de la pared de la célula y es responsable de la rigidez celular. El 80% restante de la pared celular se une con los lípidos de la lipoproteína para formar la capa laminar. Los lipopolisacáridos contienen cadenas de polisacáridos específicas que determinan la antigenicidad de las diversas especies y su componente lipídico es la estructura responsable de la actividad endotóxica (Koneman et al., 2008).

Como en otras bacterias gramnegativas, su envoltura celular se caracteriza por una estructura multilaminar. La membrana citoplasmática (o interna) consiste en una doble capa de fosfolípidos que regula el paso de nutrientes, metabolitos y macromoléculas. La capa siguiente, o capa externa, consiste en un peptidoglucano delgado junto con un espacio periplásmico que contiene una elevada concentración de proteínas. La membrana externa compleja consiste en otra doble capa de fosfolípidos que incluyen lipopolisacáridos (LPS) (en la parte más externa, son un importante factor de virulencia de estas bacterias), lipoproteínas (que están fijadas al peptidoglucano), proteínas porinas multiméricas (que facilitan el paso de diversas sustancias, incluidos los antibióticos betalactámicos) y otras proteínas de la membrana externa. Entre estas proteínas hay algunas organelas complejas que irradian hacia el exterior: los flagelos, estructuras que se utilizan para la locomoción y que provienen de una estructura basal localizada en la membrana interna, las fimbrias (o pili comunes), con importante función como adhesinas y los pili sexuales, estructuras presentes en las bacterias que contienen plásmidos conjugativos y que las bacterias utilizan para mediar la transferencia conjugativa de ADN del plásmido (Puerta-García & Mateos-Rodríguez, 2010).

El peptidoglicano está constituido por largas cadenas de glúcidos, formadas por la repetición de moléculas de ácido N-acetil murámico y N-acetilglucosamina. El ácido murámico fija cadenas de péptidos que se unen entre sí para formar una malla (Vignoli y Seija, 2008).

En las bacterias Gram negativas el peptidoglucano se localiza entre la membrana citoplasmática y la bicapa lipídica externa. El polímero peptidoglucano establece enlaces cruzados a través de cadenas laterales constituidas por péptidos cortos. Estas cadenas laterales son esenciales para la estabilidad del peptidoglucano y de la propia pared celular. Los enlaces cruzados se establecen mediante

transpeptidasas y carboxipeptidasas, que son proteínas ancladas en la membrana citoplasmáticas; estas enzimas también se denominan proteínas de unión a penicilina (PBP). Estas proteínas son el punto de acción de los antibióticos β -lactámicos. La unión covalente de un fármaco β -lactámico al punto activo de una PBP inactiva la enzima, impidiendo el establecimiento de enlaces cruzados por parte de los polímeros de peptidoglucanos; la consecuencia es la muerte celular (Struthers y Westran, 2005).

Con el descubrimiento de la penicilina en 1929 por Alexander Fleming, se dio inicio a la era de los antibióticos que ha sido uno de los más grandes logros en la medicina actual para el control de la mayoría de las enfermedades infecciosas, especialmente las bacterianas. El uso clínico de los antibióticos comenzó con la aplicación terapéutica de las sulfonamidas en la década de los años 1930 y a inicios de la década de 1940 la penicilina se volvió ampliamente disponible en casi todo el mundo (Morris, Kellner, y Low, 1998; Harrison, 1998).

Los antibióticos son moléculas que se obtienen generalmente por síntesis química o de manera natural a partir de cultivos de microorganismos. De las modificaciones de la estructura química original de un agente natural se puede obtener antibióticos semisintéticos (Lederman, 2006).

Los antibióticos betalactámicos constituyen el principal grupo de fármacos antibacterianos y son los más utilizados para el tratamiento de las infecciones humanas y de otros animales. Esta familia viene definida químicamente por la presencia de un anillo betalactámico en su estructura, originándose cinco grandes grupos: penicilinas, cefalosporinas, carbapenemes, monobactams e inhibidores de las betalactamasas. Un anillo betalactámico es un heterociclo de cuatro átomos de carbono, que tiene un oxígeno en posición β con relación al nitrógeno de la lactama; éste es esencial para la actuación de estos antimicrobianos; sin embargo, aislado carece de actividad antimicrobiana, por lo que necesita ser activado por otros radicales para unirse a las dianas donde ejerce su acción (Abanto, 2009).

Los antibióticos β -lactámicos inhiben la síntesis de la pared celular bacteriana e inducen un efecto autolítico. La destrucción de la pared celular bacteriana se produce como consecuencia de la inhibición de la última etapa de la síntesis del peptidoglicano. Los β -lactámicos inhiben precisamente esta unión, o transpeptidación, última etapa de la síntesis de la pared celular. De este modo, la pared queda debilitada y puede romperse por la presión osmótica intracelular. Para que actúen los betalactámicos es necesario que la bacteria se halle en fase de multiplicación, donde se sintetiza la pared celular. Los β -lactámicos también actúan activando una autolisina bacteriana endógena que destruye el peptidoglicano (Coyle, 2005; Vignoli y Seija, 2008).

Las urgencias médicas de la guerra europea de 1938, indujeron la búsqueda de antimicrobianos lo que permitió la producción masiva de penicilina, iniciándose la era de los antibióticos propiamente dicha. Aún sin conocer el mecanismo de acción de estos agentes, la penicilina fue aprovechada comercialmente, principalmente contra *Staphylococcus aureus* (Lederman, 2006). A inicios de la década de 1940 la penicilina se volvió ampliamente disponible en casi todo el mundo (Harrison, 1998).

Para 1941 casi todas las cepas de *Staphylococcus aureus* eran susceptibles a la penicilina; no obstante, ya en 1944 se conocen los primeros casos de resistencia por medio de β -lactamasas. En 1960 hasta el 80% de los aislamientos de *S. aureus* eran resistentes a la penicilina, debido principalmente a la producción de la enzima β -lactamasa que hidroliza e inactiva a la penicilina. Estas cepas bacterianas comenzaron a proliferar en los hospitales y a producir infecciones muy graves en pacientes hospitalizados; esto condujo a investigaciones que conllevaron a la síntesis de penicilinas resistentes a penicilinasas como la meticilina y las isoxazolil-penicilinas y posteriormente a la estreptomicina, cloranfenicol y clortetraciclina (Errecalde, 2004).

Durante el periodo de 1950 se descubrió la eritromicina y la vancomicina, y en la siguiente década, la gentamicina, ampicilina, cefalotina y amikacina. En 1960, en Europa y en Estados Unidos de América aparecieron cepas de *S. aureus* resistentes a la meticilina, las cuales fueron denominadas meticilino resistentes (MRSA) debido a los cambios estructurales de las proteínas fijadoras de penicilina 2-a (PBP2-a) (Morejon 2012). Posteriormente, durante la década de 1970 fueron descubiertos la cefalexina, carbenicilina, cefotixicina y cefaclor, mientras que en el decenio de 1980 se descubrieron la cefotaxima, moxalactam, ácido clavulánico-amoxicilina, imipenem-cilastatina y aztreonam (Echevarría, 2008; Mendoza, 2011).

En la década de 1990 se descubrieron las fluoroquinolonas, nuevos macrólidos, nuevas cefalosporinas, agentes antivirales más efectivos y, al inicio del presente milenio, se obtuvieron las quinolonas de espectro ampliado y modernos carbapenémicos (Martin, 2002; Nuñez, Morales, Rivera y González, 2006; Echevarría, 2008; Mendoza, 2011; Morejón, 2012).

Las bacterias a lo largo del tiempo han producido una amplia variedad de mecanismos de resistencia, con el fin de contrarrestar el efecto de los antibióticos. La resistencia bacteriana puede definirse como la capacidad de un microorganismo para crecer en presencia de un antimicrobiano a dosis terapéuticas; aquella emerge principalmente debido a la selección generada por los antibióticos usados, que separan subpoblaciones bacterianas con ventajosas mutaciones cromosómicas de resistencia o determinantes

móviles de resistencia adquirida, tales como plásmidos o transposones. La diseminación de la resistencia sobreviene como consecuencia de la difusión de clones o determinantes genéticos móviles, los cuales están directamente favorecidos por la homogeneidad e intensidad de la exposición en determinada población de pacientes (Del Rio, Alvarez, Buritica y Estrada, 2007).

La resistencia bacteriana conlleva la adquisición de genes de resistencia o la mutación de genes para generar resistencia a los antibióticos, de tal manera que en la actualidad ningún antibiótico o familia de antibióticos escapa a los mecanismos de resistencia desarrollados por las bacterias. Cada vez hay más microorganismos que generan diversos mecanismos de resistencia tornándose en bacterias multirresistentes (Ausina, 2005).

Se conoce como resistencia natural a los mecanismos permanentes determinados genéticamente, no correlacionables con el incremento de dosis del antibiótico. Un ejemplo de esto es la resistencia de la *Pseudomonas aeruginosa* a las bencilpenicilinas y al trimetoprim-sulfametoxazol; bacilos gram negativos aeróbicos a clindamicina. La resistencia adquirida aparece por cambios puntuales en el DNA (mutación) o por la adquisición de éste (plásmidos, transposones, integrones). Las bacterias adquieren resistencia por diferentes mecanismos genéticos: por mutación durante el proceso de replicación donde puede ocurrir errores que modifican la secuencia de la codificación del ADN, consecuentemente, la alteración de la información contenida en el ADN original; y por transferencia de ADN mediante la conjugación, transducción y transformación (Forbes, Sahm y Weissfeld, 2007; Rossi y Andreazzi, 2006).

La mutación puede desarrollar resistencia bacteriana a un antibiótico porque la pared de la bacteria se impermeabiliza al antibiótico, porque la estructura diana de la bacteria sufre modificaciones que disminuyen su afinidad, por el desarrollo por parte de la bacteria de enzimas que inactivan el antibiótico y por el desarrollo de mecanismos para la excreción activa del fármaco. Las más frecuentes son las que involucran la destrucción o alteración enzimática del antibiótico, disminución de la captación o acumulación intracelular del fármaco y modificación de acción del antibiótico. Una sola célula puede expresar una o más de estas vías para evitar el efecto de uno o más antibióticos (Forbes, Sahm y Weissfeld, 2007).

La hidrólisis enzimática implica la inactivación de los betalactámicos como consecuencia de la acción de enzimas que reciben el nombre de betalactamasas, y es el principal mecanismo de resistencia a betalactámicos. Estas enzimas son un claro ejemplo de la plasticidad de la genética bacteriana.

Probablemente originadas de un reducido grupo de enzimas cromosómicas, constituyen hoy una familia de proteínas de gran disimilitud, que ha requerido numerosas clasificaciones por el intento de poderlas agrupar. Las evidencias disponibles tienden a asignarle en un comienzo alguna función particular en la síntesis de pared, sobre todo en bacterias Gramnegativas (Vignoli y Seija, 2008).

Las betalactamasas son enzimas capaces de romper el enlace amida del anillo betalactámico, con lo que el antibacteriano no puede unirse a las proteínas fijadoras de penicilina, y por lo tanto no se produce el impedimento de la síntesis de la pared celular (mecanismo de acción del antibiótico betalactámico). La producción de betalactamasas constituye en la actualidad la principal causa de resistencia a los betaláctamicos (Casellas, 2011).

Existen dos sistemas principales de clasificación de las betalactamasas: la clasificación de Bush, Jacoby y Medeiros y la clasificación molecular de Ambler. La clasificación de Ambler se basa en la estructura molecular de las β -lactamasas y su secuencia de aminoácidos. Esta clasificación que, en forma inicial, fue introducida en 1980, reconoce cuatro tipos moleculares designados como A, B, C, y D. Los tipos A, C y D incluyen grupos de enzimas relacionados por su evolución que poseen serina en su zona activa. Las β -lactamasas de tipo B tienen una o dos moléculas de zinc en su zona activa y son inhibidas por EDTA. La clasificación de Bush-Jacoby-Medeiros se basa en los substratos que la β -lactamasa hidroliza y en la inhibición de su actividad por compuestos como el ácido clavulánico, EDTA, y aztreonam u oxacilina. Las mutaciones puntuales pueden alterar la afinidad por el sustrato específico y la susceptibilidad a los inhibidores, cambiando el grupo al que está asignada la enzima (Vignoli y Seija, 2008).

La primera betalactamasa capaz de hidrolizar penicilinas en *E. coli* fue descrita por Abraham y Chain en 1940 y resultó ser una betalactamasa AmpC. Entre las características de estas enzimas destaca que son activas frente a penicilinas, pero aún más frente a cefalosporinas y pueden hidrolizar cefamicinas y monobáctamicos. Estas enzimas se caracterizan por ser resistentes a combinaciones de antibiótico betalactamico/inhibidor con algunas excepciones (Suarez y Gudiol, 2009).

Las AmpC son serin-betalactamasas pertenecientes al grupo 1 según la clasificación de Bush-Jacoby-Medeiros. Son también llamadas cefalosporinasas, aunque su espectro de acción hidrolítica no sólo incluya cefalosporinas. Ciertas enterobacterias poseen de manera natural betalactamasas tipo AmpC, tal es el caso de *Enterobacter spp.*, *Providencia spp.*, *Morganella morganii*, *Serratia marcescens*,

Citrobacter freundii y *Hafnia alvei*; al igual que bacilos Gramnegativos no fermentadores de importancia clínica como *Pseudomonas aeruginosa* (Del valle, 2009).

Las AmpC hidrolizan las cefamicinas (cefoxitina y cefotetan), cefalosporinas de primera generación (cefalotina), segunda generación (cefuroxima), en menor medida las cefalosporinas de tercera generación, poco eficaces sobre las cefalosporinas de cuarta generación (cefepime), pero no hidrolizan los carbapenémicos, tampoco son inhibidas por los clásicos inhibidores de betalactamasas (ácido clavulánico, sulbactam y tazobactam) (Del valle, 2009). Se encuentran codificadas en el gen ampC que puede estar presente tanto en el cromosoma como en plásmidos (Moreno, 2013).

Las betalactamasas AmpC se codifican de manera intrínseca en el cromosoma bacteriano de algunas especies de enterobacterias, su síntesis es inducible en la mayoría de ellas y, bajo determinadas circunstancias, pueden hiperproducirse e hiperexpresarse. En otras especies, como *Escherichia coli* o *Shigella sp*, son intrínsecamente constitutivas y se expresan en bajo nivel de manera continua. Pero la localización de los genes de las betalactamasas AmpC no solo puede ser cromosómica (cAmpC); se cree que algunas de sus variantes cromosómicas “saltaron” a plásmidos, por lo que su localización también puede ser plasmídica (pAmpC). Además, las enterobacterias pueden expresar pAmpC independientemente de si poseen o no cAmpC. La presencia de los genes codificantes de estas betalactamasas en plásmidos conjugativos o movilizables supone un riesgo de propagación de la resistencia a cefalosporinas (Jacoby, 2009).

La clasificación de las betalactamasas AmpC según localización y expresión del gen AmpC pueden ser; AmpC cromosómicas inducibles, que se producen a bajos niveles de manera natural y aumentan su síntesis en presencia de inductores (betalactámicos), son ejemplos de bacterias productoras: *Enterobacter spp.*, *M. morganii*, *Providencia spp.* *P. aeruginosa*, entre otras. AmpC cromosómicas no inducibles (constitutivas), su expresión es a niveles muy bajos sin mostrar resistencia. Cuando se encuentran hiperproducidas pueden conferir resistencia a todos los betalactámicos a excepción de cefalosporinas de 4ta generación y carbapenémicos; la bacteria representativa es *E. coli*. AmpC plasmídicas inducibles y AmpC plasmídicas constitutivas, la evidencia molecular sugiere que los genes que codifican a estas enzimas, derivan de los genes ampC cromosómicos que naturalmente poseen las enterobacterias arriba mencionadas. Estos genes han sido integrados en elementos genéticos transferibles facilitando la diseminación a diferentes microorganismos, los genes ampC mediados por plásmidos han sido encontrados en bacterias como *Salmonella spp.*, *K. pneumoniae* y *Proteus mirabilis* que naturalmente no poseen estos genes (Del Valle, 2009).

Las primeras betalactamasas de espectro extendido, se describieron en 1983 en Alemania en diferentes aislados de Enterobacterias que presentaban resistencia a cefotaxima y ceftazidima, característica transferida por conjugación. Desde entonces estos microorganismos han reportado tener una mayor morbilidad y mortalidad en los pacientes con infecciones urinarias teniendo una frecuencia en diferentes países de 50% a 60% (Edgar y Guadalupe, 2005; Díaz et al., 2009).

Las betalactamasas de espectro extendido (BLEE), se encuentran dentro del grupo 2be de la clasificación de K. Bush, son capaces de hidrolizar la cadena oximino-betalactámica presente en la droga, lo que hace que su espectro de acción se extienda a los betalactámicos de amplio espectro, como las cefalosporinas de tercera generación y monobactámicos (aztreonam); otra característica de este grupo es que no confieren resistencia a las cefamicinas y los carbapenémicos, y son inhibidas por el ácido clavulánico (Rossi y Andreazzi, 2006). Las betalactamasas de espectro extendido son enzimas que proceden de las betalactamasas clásicas por sustituciones de algunos aminoácidos que afectan el centro activo de las penicilinasas TEM, SHV y OXA (Rocha, 2005).

La mayoría de las betalactamasas de espectro extendido son codificadas en plásmidos, los cuales se pueden transferir entre diferentes cepas de una misma especie y entre distintas especies bacterianas (Stürenburg y Mack, 2003). Las betalactamasas de espectro extendido han sido descritas fundamentalmente en cepas de *Escherichia coli*, *Klebsiella spp* y *Enterobacter spp*, pero también en microorganismos no fermentadores como es el caso de la *Pseudomonas aeruginosa* (Rocha, 2005).

Los métodos utilizados para la detección de betalactamasas, varían de acuerdo a la especie bacteriana a ser estudiada, el antibiótico a ensayar y el tipo de enzima a detectar. Hay diferentes tipos de técnicas de detección entre ellas las bioquímicas, tales como las acidimétricas, yodométricas y cromogénicas, y las técnicas microbiológicas (Fuster, 1999). Las acidimétrica son poco específicas, se basa en que los grupos carboxilo formados por hidrólisis acidifican el medio. Las yodométricas se fundan en las propiedades reductoras que poseen los productos de hidrólisis del anillo betalactámico hacia una mezcla de yodo-almidón. Esta técnica es útil para detectar penicilinasas. En tanto en las cromogénicas la hidrólisis de determinados preparados betalactámicos da lugar a la formación de productos con un espectro de absorción en la región visible diferente a la del compuesto inicial, lo que se observa como cambio de color. El compuesto más utilizado es la nitrocefina la cual cambia de color amarillo al rojo oscuro al ser hidrolizado; esta técnica es de gran sensibilidad (detecta cantidades muy pequeñas de enzima) y se utiliza frecuentemente. Las técnicas microbiológicas se basan en la pérdida de actividad antimicrobiana de los antibióticos al ser hidrolizados por la betalactamasa de la bacteria en estudio.

Esta técnica requiere más tiempo que la técnica bioquímica, sin embargo, es de mayor utilidad. Otra técnica utilizada frecuentemente es la sinergia en doble disco que se utiliza para la detección de enzimas de espectro extendido y se basa en la propiedad del ácido clavulánico de inhibir estas enzimas (García y Canton, 2000).

En Canadá durante 2005, se realizó un estudio en el que se observó que el 11% de *E. coli* resistentes a cefoxitina producían pAmpC (0,8% del total de *E. coli* aislados). En otro estudio realizado en unidades de cuidados intensivos de hospitales de todo ese país, se señaló como el principal mecanismo de resistencia a cefoxitina en *E. coli* la adquisición de pAmpC (Mulvey, Bryce, Boyd, Ofner-Agostini, Land, Simor et al, 2005; Simner, Zhanel, Pitout, Tailor, McCracken, Mulvey et al, 2011).

En un estudio en Rajasthan, India, para determinar opciones de terapia de antibióticos y resistencia bacteriana con énfasis en producción de betalactamasas tipo BLEE y AmpC se utilizó el método de difusión de discos fenotípicamente confirmatorio para determinar la producción de BLEE y para la detección de AmpC, el test de discos AmpC (TDA), se encontró la prevalencia de BLEE y AmpC, y coexistencia del fenotipo (BLEE –AmpC), de 66,9%, 21,1% y 3,5% respectivamente (Dalela et al., 2012)

En niños de comunidades rurales de la selva peruana que no se exponen a antimicrobianos se determinó que cepas de *Escherichia coli* presentaban una tasa de resistencia a ceftriaxona de 0.1% en 2002 y de 1,7 % en el año 2005 estableciéndose la presencia de betalactamasas de espectro extendido tipo CTX-M del grupo 9 (CTX-M-14 y CTXM-15). Asimismo, se encontró que la producción de betalactamasas de espectro extendido en *Klebsiella* y *Escherichia coli* aisladas de hemocultivos de nueve hospitales de Lima, Perú durante el 2008-2009 fue de 75,1 % y 76,8 %, respectivamente (García, Astocondor y Banda, 2012).

En un estudio realizado en dos hospitales de Lima, Perú se halló que el 2,9% de las cepas de *E. coli* y el 44,4% de *Klebsiella pneumoniae* fueron confirmadas como productoras de β -lactamasas de espectro extendido y se identificó la presencia del gen blaTEM en cuatro cepas (tres de *K. pneumoniae* y uno de *E. coli*) y el gen blaSHV en seis cepas (tres de *K. pneumoniae* y tres de *E. coli*) y el secuenciamiento de los correspondientes genes confirmó las betalactamasas TEM-10 y SHV-5 (Morales, Reyes, Monteghirfo, Roque y Irey , 2005).

En Trujillo, Perú se reportó el 87.5 % de *Escherichia coli* productores de betalactamasas clásicas y el 40% de esta misma bacteria productoras de betalactamasas de espectro extendido aisladas de urocultivos de pacientes del Hospital Víctor Echegaray (Gonzales, 2016). En la misma ciudad se reportó el 15% de *Klebsiella sp.*, productora de betalactamasas de espectro extendido aisladas de urocultivos de varios hospitales de la ciudad. (Pineda, 2012).

En cultivos de enterobacterias aisladas del Hospital Regional Cayetano Heredia de Piura y en el Laboratorio Referencial de Salud de Piura, Perú se detectó que el 10.83 % eran productoras de betalactamasas de espectro extendidas, mediante el método del sinergismo con discos de ácido clavulánico y amoxicilina. (Fernández, 2017).

En otros estudios de bacterias productoras de β -lactamasas clásicas y de espectro ampliado realizado en pacientes con infecciones de transmisión urinaria atendidos en el Centro de salud II-Talara en el 2003, se encontró que de los 250 urocultivos positivos para *E. coli*, 232 (93%) fueron productores de β -lactamasas (Mendoza, 2003).

La resistencia bacteriana a los antibióticos está directamente ligada al incremento en las tasas de mortalidad y morbilidad además del aumento en los costos de hospitalización en pacientes con infecciones de bacterias resistentes a antibióticos cuando se compara con infecciones similares que son ocasionadas por bacterias no resistentes a antibióticos (Gervas, 2000).

La diversidad en el grado de hidrólisis de los antibióticos por las β -lactamasas, conduce a la necesidad de evaluar la capacidad de los distintos métodos para la detección de cepas productoras de BLEE, eligiendo el método con mejores propiedades diagnósticas y económicas, lo que llevará a una oportuna identificación, con los consiguientes beneficios para el paciente y la comunidad y sobre esta base proponer las medidas de vigilancia para su detección e identificación. La proporción de aislados resistentes a múltiples antimicrobianos, incluidos aquellos que producen betalactamasas de espectro extendido (BLEE), ha aumentado de forma ininterrumpida, de modo que casi todas las cepas nosocomiales, y muchas de las infecciones adquiridas en la comunidad, son ahora resistentes a varias clases importantes de antimicrobianos (Sanchez, 2004; Perozo y Castellano, 2009).

La Organización Mundial de la Salud ha considerado la emergencia y diseminación de la resistencia antimicrobiana como un problema prioritario. Por eso es importante publicar y dar a conocer los

patrones y tendencias de sensibilidad en los diferentes hospitales de un país y del mundo, para aplicar o intensificar medidas estrictas de vigilancia y control del uso de los antibióticos (Cornejo, 2007)

La identificación de bacterias productoras de BLEE debe ser una prioridad en los laboratorios de microbiología clínica a fin de posibilitar un abordaje terapéutico adecuado, para lo cual existe una diversidad de opciones: métodos fenotípicos, genotípicos, presuntivos y confirmatorios, todos ellos con ventajas y desventajas. Las pruebas fenotípicas constituyen una estrategia muy práctica, económica y accesible; en tal sentido, su implementación debería ser ampliamente difundida en los laboratorios microbiológicos clínicos (Sánchez, 2004; Perozo y Castellano, 2009).

El objetivo fue determinar la frecuencia de enterobacterias productoras de betalactamasas AmpC y de espectro extendido aisladas en el Hospital Universitario de la Universidad Nacional de Piura, Piura, Perú.

II- MATERIAL Y MÉTODOS

2.1 Área de estudio

Esta investigación se realizó en el Hospital Universitario de la Universidad Nacional de Piura de enero a junio de 2018. El Hospital Universitario se encuentra ubicado en la avenida Luis Montero S/N, en la esquina con la avenida Andrés Avelino Cáceres, distrito de Castilla, provincia y departamento de Piura. Presenta categoría de establecimiento de salud I-4, y brinda los servicios de hospitalización, emergencia y atención de consulta externa.

2.2 Material

2.2.1 Material biológico

Muestras de orina de pacientes del Hospital Universitario de la Universidad Nacional de Piura durante los meses de enero a junio 2018.

2.3 Métodos

2.3.1 Población

Fueron consideradas las muestras de orina con solicitud de urocultivos provenientes de consultorio externo, servicio de hospitalización y emergencia que llegaron al laboratorio del Hospital Universitario de la Universidad Nacional de Piura.

2.3.2 Tamaño de la muestra

Se realizó un muestreo simple, de oportunidad. El tamaño de muestra se calculó con un nivel de confianza del 95%, 5% de precisión y considerándose un 10% de frecuencia de enterobacterias productoras de betalactamasas recuperadas de cultivos de muestras urinarias.

$$n = \frac{Z_{\alpha}^2 \cdot p \cdot q}{i^2}$$

Dónde:

n = tamaño de muestra

$Z_{\alpha/2}$ 1.96, valor para un 95% de confianza

p = 0.1

q = $1 - p$ = 0.9

i = 0.05 (precisión)

Realizando los cálculos, resultó n = 138.2.

Se incluyó 139 muestras de orina con solicitud de urocultivos positivos para enterobacterias

2.3.3 Obtención y recepción de la muestra

La muestra de orina fue colectada en un frasco descartable estéril de tapa rosca. Ésta se obtuvo mediante la técnica del chorro medio; el paciente no debió haber ingerido antibióticos o, de lo contrario, regresaba cuatro días después de culminado su tratamiento. La orina se recolectó de preferencia de la primera micción matinal. Finalmente, la muestra fue llevada al laboratorio del mismo hospital, donde se anotaron datos tales como edad y sexo.

2.3.4 Aislamiento e Identificación de cepas

Las muestras obtenidas se sembraron por dispersión y agotamiento con la ayuda de un asa estéril en agar McConkey y se incubaron a 37°C por 18 a 24 horas. La identificación se realizó mediante la aplicación de pruebas bioquímicas diferenciales, según la metodología convencional (Holt, Krieg, Sneath, Staley, Williams, 1994; Mac Faddin, 2003; Koneman et. al, 2008).

Para la identificación de cepas se realizaron las siguientes pruebas:

- Prueba de oxidasa, que tiene por objetivo la determinación de las enzimas oxidasas. Distingue a las *Pseudomonadaceae*, que son oxidasa positiva, de las enterobacteriáceas, que son oxidasas negativas (excepto *Plesiomonas shigelloides*). Las enzimas citocromooxidasa (componentes de la cadena respiratoria bacteriana) activan la oxidación del citocromo, el cual es posteriormente reducido por el oxígeno

molecular, produciendo agua o peróxido de hidrogeno, según la especie bacteriana. Se utilizaron tiras reactivas con reactivo de Kovacs (tetrametil-p-fenilendiamina al 1%) que es incoloro. Cuando la reacción fue positiva, la zona de prueba cambia hasta un color púrpura (MacFaddin, 2003; Nerea, 2015).

- Prueba de uso de citrato, en agar citrato de Simons; se utiliza para determinar la capacidad de algunas bacterias para utilizar citrato como única fuente de carbono y las sales inorgánicas de amonio como única fuente de nitrógeno. Las reacciones que tienen lugar en dichas condiciones provocan un cambio del pH del medio que se detecta con azul de bromotimol. Se tomó un inóculo de las colonias, se sembró haciendo un estriado en la superficie de un tubo con agar citrato Simons y finalmente se incubo por 24 a 48 horas. Es positivo cuando existe cambio de color en el medio a color azul intenso; de lo contrario, si no existe cambio de color y el medio permanece verde se considera negativo (MacFaddin, 2003; Nerea, 2015).
- Prueba de la ureasa, en agar urea; se tomó un inóculo de las colonias, se sembró haciendo un estriado en la superficie y finalmente se incubó por 24 a 48 horas. Este medio es utilizado para diferenciar microorganismos en base a la actividad de la ureasa. Algunas bacterias hidrolizan la urea por medio de la enzima ureasa liberando amoníaco y dióxido de carbono. Estos productos alcalinizan el medio haciendo virar el rojo de fenol del amarillo al rojo (MacFaddin, 2003).
- Fermentación de glucosa, sacarosa y/o lactosa en medio TSI (Hierro Triple Azúcar); se inoculó por picada sobre el fondo y estriado en la parte superficial, se incubo por 24 a 48 horas, y luego se realizó la lectura para detectar ácido, gas y producción de ácido sulfhídrico (MacFaddin, 2003; Rivas, Miliwebsky y Deza, 2007).
- Descarboxilación de la lisina en tubos con medio LIA (Agar Lisina Hierro); se inoculó por picada sobre el fondo y estriado en la parte inclinada, se incubó por 24 a 48 horas. Por descarboxilación de la lisina se produce la amina cadaverina, que alcaliniza el medio y esto origina el viraje del indicador al color violeta (MacFaddin, 2003).
- Prueba de movilidad, producción de ácido sulfhídrico e indol, en tubos con medio SIM (Motilidad, Indol y Sulfuro de Hidrogeno), destinado a verificar la motilidad,

producción de indol y de sulfuro de hidrógeno en un mismo tubo. Se inoculó con un asa una cepa bacteriana, en una sola picada y se incubó a 37°C por 24 - 48 horas. Transcurrido este tiempo se realizó la prueba de Indol agregando 0.3 ml de reactivo de Kovacs y después de 10 minutos se observó para saber si la prueba es positiva (color rosado).

- Prueba de VP-RM (Rojo de Metilo y Voges-Proskauer); estas pruebas combinadas se utilizan para determinar la capacidad de un microorganismo de generar y mantener productos finales ácidos estables por fermentación de la glucosa, para superar la capacidad amortiguadora del sistema, y para determinar la capacidad de algunos microorganismos de elaborar productos finales neutros (p. ej., acetilmetilcarbinol o acetoína) a partir de la fermentación de la glucosa. Se tomó una colonia pura con un asa, se inoculó al caldo VP-RM, y se incubó a 37°C por 24 – 48 horas. Pasado el tiempo de incubación, se transfirió 1 ml del cultivo a un tubo estéril y se le agregó 0.6 ml de alfa naftol y seguido 0.2 ml KOH al 40 %; luego se dejó en reposo de 2 - 4 horas para conocer si la reacción era positiva si cambia a color rojo indicativo de producción de acetoína, o negativa si permanecía con color amarillo. Al cultivo contenido dentro del caldo restante se le agregó 5 gotas de solución rojo de metilo y se agitó para ver si la reacción era positiva cuando cambiaba a color rojo brillante indicativo de fermentación mixta, o negativa si permanecía de color amarillo (MacFaddin, 2003).

2.3.5 Detección fenotípicas de betalactamasas AmpC

Se empleó el Método de aproximación de discos, aplicable a betalactamasas AmpC inducibles (Sanders y Sanders, 1979). A partir de un cultivo puro de enterobacterias se preparó una suspensión bacteriana con solución salina fisiológica a una turbidez que correspondió al tubo 0.5 de la escala de Mac Farland. Con ayuda de un hisopo de algodón estéril, se sembró esta suspensión sobre toda la superficie de una placa Petri de 90 mm con agar Mueller-Hinton en direcciones diferentes, rotando la placa con giros de 60°; se dejó reposar cinco minutos y seguidamente se colocó discos de antibióticos, Imipinem (IPM 30 µg) (antimicrobiano inductor), a una distancia de 27mm centro-centro de un disco de ceftazidima(CAZ 30 µg) y ceftriaxona (CRO 30 µg)(antimicrobiano sustrato, revelador o testigo). Se considera que el

microorganismo de prueba producirá una betalactamasa inducible si se observa un halo de inhibición truncado del antimicrobiano sustrato, testigo o revelador.

También se utilizó el método de sinergia del doble disco para la detección fenotípica de AmpCp (plasmídicas) constitutivas; se basan en la propiedad que presentan estas enzimas de ser inhibidas por cloxacilina y en la utilización de cefalosporinas de tercera generación como indicadores (Mirelis et al., 2006). A partir de un cultivo puro de enterobacterias se preparó una suspensión bacteriana con solución salina fisiológica estéril a una turbidez que correspondió al tubo 0.5 de la escala de Mac Farland. Con ayuda de un hisopo de algodón estéril, se sembró esta suspensión sobre toda la superficie de una placa Petri de 90 mm con agar Mueller-Hinton en direcciones diferentes, rotando la placa con giros de 60°; se dejó reposar cinco minutos y seguidamente se colocó discos de antibióticos, de ceftazidima (CAZ 30 µg) y ceftriaxona (CRO 30 µg), a 25 mm de centro a centro de un disco central de cloxacilina (CLX 30 µg). Se incubó a 37°C por 18-24h, y posteriormente se realizó la lectura. La producción de AmpCp se demuestra por la ampliación del halo de inhibición de cualquiera de los indicadores por la acción del inhibidor (Cercenado y Cantón, 2011).

2.3.6 Detección de Betalactamasas de espectro extendido (BLEE)

2.3.6.1 Test de tamizaje para detección de β-lactamasas de espectro extendido

El Clinical and Laboratory Standards Institute (CLSI) recomienda el método de tamizaje. A partir de un cultivo puro de enterobacterias se preparó una suspensión bacteriana con solución salina fisiológica a una turbidez que correspondió al tubo 0.5 de la escala de Mac Farland. Con ayuda de un hisopo de algodón estéril, se sembró esta suspensión sobre toda la superficie de una placa Petri de 90 mm con agar Mueller-Hinton en direcciones diferentes, rotando la placa con giros de 60°; se dejó reposar cinco minutos y seguidamente se colocó discos de antibióticos de Aztreonam (ATM 30 ug), Cefotaxima (CTX 30 ug), Ceftazidima (CAZ 30 ug) y Ceftriaxona (CRO 30 ug) y se incubaron a 37°C por 18-24h.

Se considera cepa sospechosa de producir betalactamasas de espectro extendido cuando presenta diámetros de halos de inhibición iguales o inferiores, según el antibiótico, a Aztreonam ≤ 27 mm, Cefotaxima ≤ 27 mm, Ceftazidima ≤ 22 mm y

Ceftriaxona ≤ 25 mm; para al menos uno de los antibióticos (Calderón, Yagui, Sacsquispe, 2002; Clinical and Laboratory Standard Institute, 2013).

2.3.6.2 Confirmación del fenotipo β -lactamasas de espectro extendido

Se utilizó el Método de Jarlier, recomendado por el Comité de la Sociedad Francesa de Microbiología. A partir del cultivo puro de enterobacterias se preparó una suspensión bacteriana con solución salina fisiológica a una turbidez que correspondió al tubo 0.5 de la escala de Mac Farland. Con ayuda de un hisopo de algodón estéril, se sembró esta suspensión sobre toda la superficie de una placa Petri de 90 mm con agar Mueller-Hinton en direcciones diferentes, rotando la placa con giros de 60° ; se dejó reposar cinco minutos y seguidamente se colocó discos de antibióticos de ceftazidima (CAZ 30 μ g), ceftriaxona (CRO 30 μ g), cefotaxima (CTX 30 μ g) y Aztreonam (ATM 30 ug) centro a centro a 25 mm de un disco central de amoxicilina/ácido clavulánico (AMC 20/10 μ g). Se incubó a 37°C por 18-24h, y posteriormente se realizó la lectura.

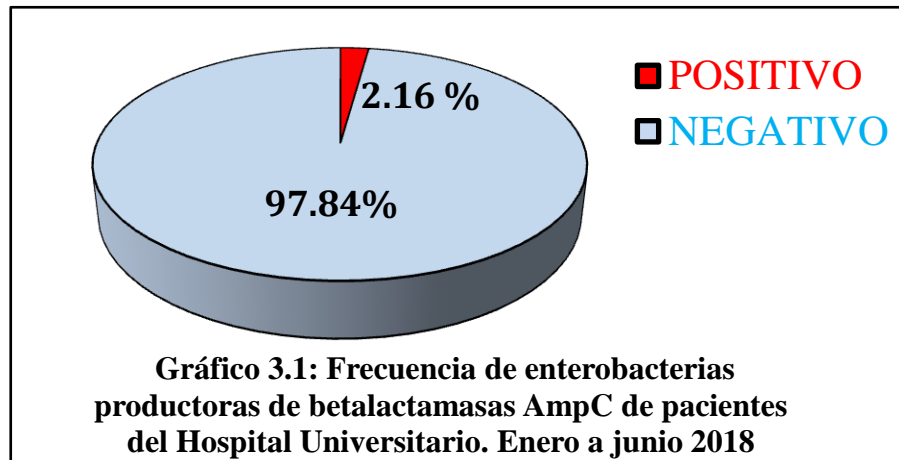
La presencia de β -lactamasas de espectro extendido se manifestó por el efecto sinérgico entre el inhibidor y los discos de antimicrobianos, demostrándose el denominado efecto de huevo, cola de pez o balón de fútbol americano (Jarlier, Nicolas, Fournier y Philippon, 1988; Calderón et al., 2002).

2.4 Análisis De Datos

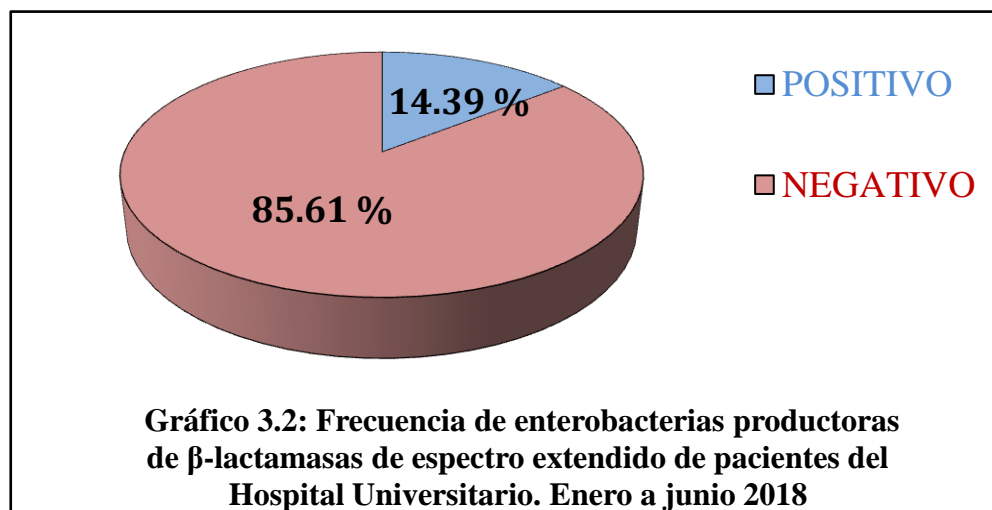
El procesamiento y análisis de los datos obtenidos se realizó con IBM SSPS versión 22 y Microsoft Office Excel 2017. Los resultados fueron analizados para la estadística descriptiva y utilizando la prueba de Ji-cuadrado con un nivel de confianza de 0.95, para determinar si existe diferencia significativa entre las frecuencias observadas y las esperadas.

III- RESULTADOS

De los pacientes que asistieron al Hospital Universitario de la Universidad Nacional de Piura, Piura, Perú; entre enero y junio de 2018 se halló tres cultivos (2.16%) de enterobacterias productoras de betalactamasas de tipo AmpC (Grafico 3.1).



De los pacientes que asistieron al Hospital Universitario de la Universidad Nacional de Piura, Piura, Perú; entre enero y junio de 2018 se halló 20 cultivos (14.39%) de enterobacterias productores de betalactamasas de espectro extendido (BLEE) (Gráfico 3.2).



En relación a la hipótesis, según la prueba ji cuadrada de bondad de ajuste los resultados obtenidos no son significativos al nivel de $p < 0.05$.

Los aislamientos de enterobacterias productoras de AmpC fueron dos cultivos de *Klebsiella pneumoniae* (66.67%) y uno de *Escherichia coli* (33.33%) (Tabla 3.1).

Tabla 3.1. Frecuencia de especies de enterobacterias productoras de AmpC aisladas en muestras de pacientes del Hospital Universitario, enero a junio de 2018.

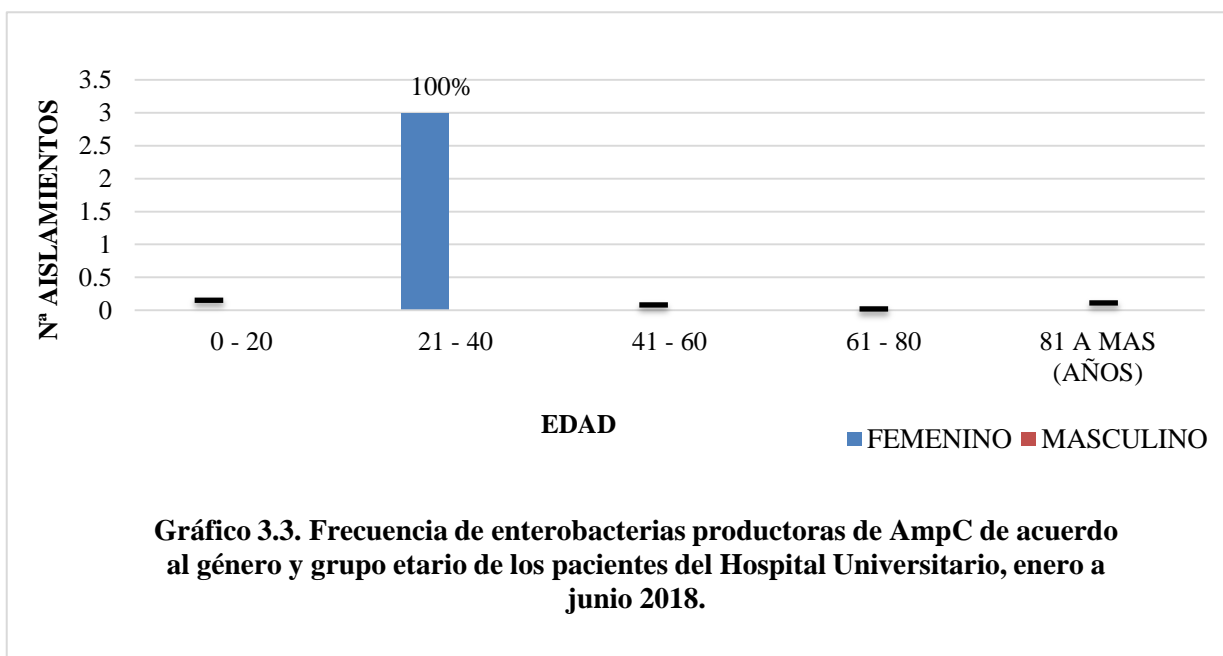
ESPECIE	CULTIVOS PRODUCTORES DE AmpC	%
<i>Klebsiella pneumoniae</i>	02	66.67 %
<i>Escherichia coli</i>	01	33.33 %
Total	03	100.00 %

De los aislados confirmados productores de BLEE, 16 cultivos fueron *Escherichia coli* (80%) y cuatro (20 %), *Klebsiella pneumoniae* (Tabla 3.2).

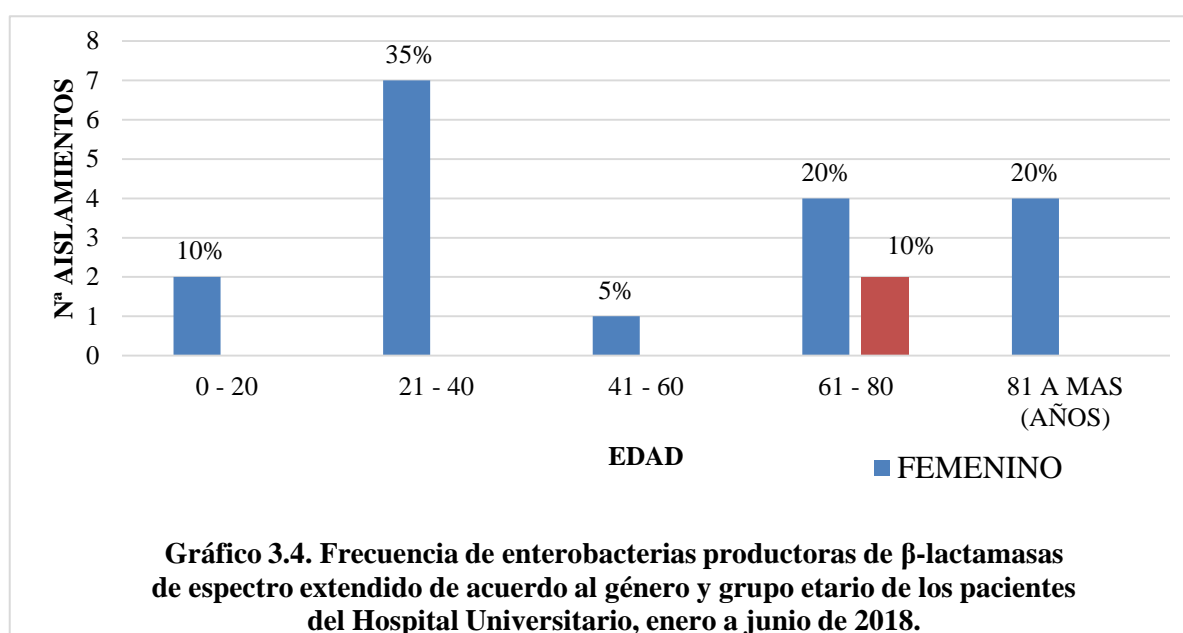
Tabla 3.2. Frecuencia de especies de enterobacterias productoras de β -lactamasas de espectro extendido, aisladas en muestras de pacientes del Hospital Universitario, enero a junio de 2018.

ESPECIE	CULTIVOS PRODUCTORES DE BLEE	%
<i>Escherichia coli</i>	16	80 %
<i>Klebsiella pneumoniae</i>	4	20 %
Total	20	100 %

De los cultivos de enterobacterias productores de AmpC, los tres fueron aislados de pacientes de sexo femenino y de mujeres entre 21 y 40 años (Gráfico 3.5).



Entre tanto, de los aislamientos de betalactamasas de espectro extendido (BLEE), 18 de ellas fueron obtenidas a partir de muestras de pacientes del sexo femenino, y solo dos de pacientes de sexo masculino (Gráfico 3.6).



Los aislamientos de enterobacterias productoras de AmpC fueron obtenidas de pacientes del área de hospitalización y emergencia (Tabla 3.3).

Tabla 3.3. Frecuencia de enterobacterias productoras de AmpC según el área de procedencia de la muestra en el Hospital Universitario, enero a junio de 2018.

ÁREA DE PROCEDENCIA	NÚMERO DE AISLAMIENTOS	%
HOSPITALIZACION	02	66.67
EMERGENCIA	01	33.33
AMBULATORIO	00	0
TOTAL	03	100

Las cepas de enterobacterias productoras de betalactamasas se aislaron de muestras de pacientes de las tres áreas; emergencia, hospitalización y ambulatorio (Tabla 3.4).

Tabla 3.4. Frecuencia de enterobacterias productoras de β -lactamasas de espectro extendido según el área de procedencia de la muestra en el Hospital Universitario, enero a junio de 2018.

ÁREA DE PROCEDENCIA	NÚMERO DE AISLAMIENTOS	TOTAL %
HOSPITALIZACION	3	15
EMERGENCIA	3	15
AMBULATORIO	14	70
TOTAL	20	100

IV- DISCUSION

En los resultados del análisis estadístico, se aplicó la prueba de chi-cuadrado, para contrastar hipótesis, se obtuvo un valor $p=0.561$ para el caso de las frecuencias de betalactamasas AmpC, en tanto para las frecuencias de betalactamasas de espectro extendido se obtuvo un valor $p=0.085$; para ambos casos el valor p es mayor al nivel de significancia 0.05. Por lo tanto se concluye que la hipótesis nula no se rechaza, entonces las frecuencias observadas son semejantes a las esperadas.

En cepas aisladas del Hospital Regional Cayetano Heredia de Piura, Perú y del Laboratorio Referencial de Salud de Piura, Perú se detectó que 10.83% (39/360) fueron productores de betalactamasas de espectro extendido mediante el método del sinergismo con discos de ácido clavulánico y amoxicilina (Fernández, 2017); asimismo, en el 2014 se halló que del total de bacterias aisladas en mujeres gestantes en el Hospital José Cayetano Heredia, Piura, Perú, el 19.5% (42/215) eran bacterias productoras de enzimas betalactamasas de espectro extendido (BLEE) (Falla, 2015). Estos resultados son semejantes con lo encontrado en esta investigación que fue del 14.39% (14/139) de enterobacterias productoras de betalactamasas de espectro extendido. Empero, se puede afirmar que en la ciudad de Piura existen microorganismos capaces de sintetizar enzimas de resistencia AmpC y BLEE.

De otro lado, en Lambayeque, Perú, se detectó que en un hospital provincial el 42.3% de enterobacterias fueron sospechosas de producir BLEE y posteriormente se confirmó que el 18,1% resultaron productoras de BLEE (Gutiérrez y Galindo, 2015). En la presente investigación, el porcentaje de cepas sospechosas a BLEE fue del 41.7% (58/139), muy similar al observado en Lambayeque, mientras que las enterobacterias confirmadas fueron 14,39% (20/139). Esta semejanza podría explicarse porque los habitantes de ambas ciudades tienen un parecido nivel socioeconómico, sobre todo en las clases económicamente más deprimidas (APEIM, 2017). La alta prevalencia de enfermedades infecciosas, el incremento de la pobreza, el alto costo de los medicamentos, las tarifas de los servicios son factores que ha contribuido al uso y mal uso de los antibióticos y consecuentemente al incremento de la resistencia a los antibióticos (Quizhpe, y otros, 2014). Al existir elevados niveles de pobreza aumentaría la posibilidad de no tener un manejo adecuado de los antibióticos lo que apoyaría la existencia de cepas resistentes.

En Trujillo, Perú, se reportó el 35.71% (40/112) de productoras de betalactamasas de espectro extendido (BLEE), aisladas de urocultivos de pacientes del Hospital Víctor Lazarte Echegaray (Gonzales, 2016), mientras que en la misma ciudad se reportó el 15% (3/20) de *Klebsiella sp.*

productora de betalactamasas de espectro extendido, de varios hospitales de la ciudad (Pineda, 2012). Así también, en el 2005, en Lima, Perú, se encontró el 40.78% de cepas sospechosas de producir betalactamasas de espectro extendido, en tanto que en 2006 se halló una frecuencia del 34.38% (Cuellar, 2005; Bermúdez, 2006), en tanto que en el 2010, en el Hospital del Niño en Lima, Perú el 62,8% (27/43) de aislamientos de enterobacterias fueron confirmadas (Lezameta, Gonzáles y Tamariz, 2010). La frecuencia obtenida en esta, de 14,39% (14/139) para producción de BLEE, es menor a las descritas por los autores anteriores en distintas ciudades del Perú. Estas diferencias pueden deberse a que los hospitales mencionados anteriormente congregan mayor cantidad de pacientes y, por lo tanto, existe mayor volumen de antibióticos dispensados lo que predispone a la mayor circulación de cepas resistentes.

De otro lado, en Rajasthan, India se encontró una prevalencia de BLEE de 66,9%, y de betalactamasas AmpC de 3,5% (Dalela et al., 2012), mientras que estudios realizados en EE.UU. mostraron un resultado de 1,2% de *E. Coli* productores de AmpC (Deshpande et al., 2006), igual que estudios de prevalencia de AmpC en pacientes no hospitalizados realizados también en U.S.A. encontraron una frecuencia global de 0,6 % y 0,5 % en *E. Coli* y *Klebsiella spp.* respectivamente (Hanson et al., 2008). De igual manera, en un estudio desarrollado en dos hospitales distanciados geográficamente en España se detectó que la prevalencia de AmpC en Enterobacterias fue del 0,17% (Navarro et al., 2001), pero en Argentina se encontró un porcentaje del 0,55% de Enterobacterias productoras de AmpC (Jure et al., 2011). En cambio, en Colombia se obtuvo una frecuencia de 2,05% de AmpC (Morales et al., 2011), así como en el Hospital Provincial Docente Belén de Lambayeque, Perú, se encontró una prevalencia de 0% de enterobacterias productoras de AmpC (Gutiérrez y Galindo, 2015). Estas frecuencias de AmpC menores al 3% son parecidas al valor de 2.16% (3/139), encontrado en este estudio. La baja frecuencia de betalactamasas AmpC puede deberse a que estas enzimas, a diferencia de las BLEE, no poseen en la actualidad un método estandarizado para su detección fenotípica. Este hecho, sumado a la dificultad para dilucidar fenotípicamente si se está en presencia de una AmpC cromosómica o plasmídica (Del Valle, 2009) podría ser una causa para las bajas frecuencias detectadas. Por otro lado, las betalactamasas AmpC en especies, como *Escherichia coli*, son intrínsecamente constitutivas y se expresan en bajo nivel de manera continua, lo que puede interferir en la expresión de las formas plasmídicas (Seral, 2012).

En el año 2008, en España se encontró que el principal servicio de donde provenían los pacientes con infección por bacterias productoras de BLEE fue del servicio de hospitalización y emergencia con el 48,7% (Diestra, et al, 2008); lo cual coincide con los hallazgos en el Hospital Almanzor Aguinaga

Asenjo de Chiclayo, Perú, donde se encontró el 38% de enterobacterias productoras de BLEE (Escalante, 2013). Así mismo, en México se encontró una mayor prevalencia de *Escherichia coli* y *Klebsiella pneumoniae* productoras de BLEE hospitalarios (31.8% y 35.3%) que comunitarios (14.4 y 0.0%) (Navarro et al., 2011). Sin embargo, los resultados anteriores difieren de los encontrados en Brasil, donde se confirmó la creciente frecuencia (31.4%) con que cepas productoras de BLEE se encuentran en el entorno de la comunidad (Villegas, et al., 2011). En otro estudio en España sobre microorganismos productores de BLEE, el 51% de las cepas de *E. coli* BLEE positivas y el 7% de las cepas de *K. pneumoniae* BLEE positivas se aislaron en pacientes de la comunidad (Hernández, 2003). Estos últimos resultados coinciden con los resultados hallados en esta investigación que se encontró mayor proporción de enterobacterias productoras de BLEE en el medio extra hospitalario (ambulatorio) que en el intrahospitalario (70% contra 30%, respectivamente), en el Hospital Universitario de la Universidad Nacional de Piura. Se cree que la venta libre de medicamentos en las tiendas y farmacias aunada a la presión de la publicidad en los medios de comunicación son factores que ha contribuido al sobreuso y mal uso de los antibióticos y, consecuentemente, al incremento de la resistencia a los antibióticos de las bacterias en el entorno de la comunidad (Quizhpe, y otros, 2014).

La identificación de un número mayor de pacientes con cultivos positivos para *E. coli* productora de BLEE 80% (16/20) que para *K. pneumoniae* 20% (4/20), es similar a lo hallado en el 2000 en Madrid, España en donde se describen aislamientos de productoras de BLEE para *E. coli* de 70,83% y para *K. pneumoniae* de 29,16% (Hernández, 2003); así mismo en otro estudio realizado en España en el 2012 se encontró 93% y 7% de pacientes positivos para infección por *E. coli* y *Klebsiella* productora de BLEE, respectivamente (Briongos et al, 2012).

En los últimos años, diversos estudios sobre bacteriología y resistencias de patógenos urinarios aislados en ámbitos intrahospitalario y extrahospitalario, evidencian que *Escherichia coli* sigue siendo el germen más frecuentemente aislado en los cultivos de orina (70-80% de los casos) y, por otro lado, en la mayoría de los estudios realizados se observa un aumento importante de resistencia, sobre todo de *E. coli* (Anandkumar et al., 2003). *Escherichia coli* desempeña un importante papel en la fisiología del intestino, se le considera como la más abundante de las bacterias anaerobias facultativas intestinales y se excreta diariamente con las heces entre $10^8 - 10^9$ UFC/g de heces y por sus características es uno de los indicadores de contaminación fecal más utilizados, por lo que su distribución en el ambiente está influenciada por su presencia en el intestino. Se transmite hacia el tracto urinario y por contacto humano directo durante la preparación de los alimentos y del agua, tiene la capacidad de reproducirse fuera del intestino de los animales homeotérmicos, favorecida por la existencia de condiciones

adecuadas de materia orgánica, pH, humedad, etc. *E. coli* presenta diversos factores de virulencia, como las fimbrias, que permiten la adherencia a las células del uroepitelio; hemolisinas, factor necrotizante citotóxico, proteína de invasión, entre otros (Ryan, 2004). En este estudio, *Escherichia coli*, así como en la mayoría estudios fue la especie con mayor porcentaje de aislamientos procedentes de muestras de urocultivos con un 72.7%, y de estos el 16.8% produjeron algún tipo de resistencia por betalactamasas.

Las infecciones del tracto urinario son un problema frecuente; se estima que entre el 10 y el 30% de las mujeres presentarán un episodio de ITU baja a lo largo de su vida. Un estudio en un hospital de Lima, Perú, mostró una mayor prevalencia de infecciones del tracto urinario en pacientes del género femenino, alcanzando el porcentaje de productores de BLEE de 18,1%, con mayor frecuencia de aparición entre las edades de los rangos de 16-30 años y 46-60 años (Gutiérrez y Galindo, 2015). En el presente estudio las muestras de pacientes femeninos representaron el 90.65% (126/139) positivos para aislamientos de enterobacterias, de las cuales el 15.1% (21/139) correspondió a enterobacterias productoras de betalactamasas de espectro extendido, siendo las edades de mayor frecuencia entre los 20 y 40 años, seguido de las edades avanzadas de 60 años a más.

En Rioja, España en un estudio en muestras fecales, se detectó el 31% de enterobacterias productoras de BLEE y 4% de productoras de AmpC (Nerea, 2015), mientras que, en el Instituto Nacional de Salud del Niño de Lima, Perú se encontró que, a partir de muestras fecales, el 28,6% de cepas de *Escherichia coli* y el 40,9% de *Klebsiella pneumoniae* fueron productoras de betalactamasas de espectro extendido (Colquechagua y Gonzales, 2014). Es conocido que las enterobacterias de la microbiota intestinal son portadoras de genes y mecanismos de resistencia a antibióticos (Modi *et al.*, 2014; Huddleston, 2014). Los principales microorganismos demostrados como productores de betalactamasas de espectro extendido son *Escherichia coli*, *Klebsiella pneumoniae* y *Klebsiella oxytoca*, aunque en los últimos años ha aumentado el número de especies capaces de producir estas enzimas (Stürenburg y Mack, 2003). En la presente investigación *E. coli* y *Klebsiella pneumoniae* presentaron algún tipo de resistencia, con una frecuencia de 14.0% (17/121) y 17.6 (6/34)% respectivamente; éstos son géneros de enterobacterias que están presentes en la microbiota intestinal y por lo tanto es muy probable que colonicen otras áreas del organismo humano, como el tracto urinario, sobre todo en mujeres.

Los seres humanos nos son los únicos que presentan cepas resistentes. En Cajamarca, Perú, en el año 2010 se evaluó la susceptibilidad a betalactámicos y resistencia por betalactamasas de espectro extendido en enterobacterias aisladas de superficies de un hospital. Los resultados revelaron que el

26.6% eran enterobacterias productoras de betalactamasas de espectro extendido, de las cuales 66.6% fueron *Escherichia coli* (Rivera, Rodríguez, Huayán y Mercado, 2010). Los microorganismos resistentes están ampliamente extendidos en hospitales, incrementándose progresivamente su aparición también en la comunidad, así como animales y alimentos (Frinch et al., 2006; Radhouani et al., 2014). Por ejemplo, en el 2017 se realizó un estudio microbiológico del agua de la Bahía de Sechura, Perú, encontrándose que de 108 aislamientos de *Escherichia coli*, el 18.52% resultaron ser cepas productoras de BLEE y 13.89%, de AmpC (Alejos, 2017). Así también, en el 2015 se estudiaron cepas provenientes de infecciones animales y se detectó que el 2% de éstas eran productoras de betalactamasas AmpC (Centeno, Salvatierra y Calle, 2018), mientras que un estudio en mercados de Lima, Perú, en 2017, demostró la presencia de *E. coli* productor de BLEE en 59.4% de muestras de pollo, y *E. coli* productor de AmpC plasmídicas estuvo presente en el 6.2% en pollo y 5% en ganado vacuno (Ruiz et al., 2018).

En tanto en la ciudad de Piura también se han realizado estudios sobre bacterias resistentes presentes en el medio ambiente, como en el 2015, que se evaluó las aguas de: Laguna de Ñapique, Playa Mataballo, Playa Chulliyache, Playa San Pedro y Represa los Ejidos; los resultados se concluyó que el género *Escherichia* presento mayor resistencia, con una multiresistencia a seis antibióticos; mientras que *Klebsiella* y *Citrobacter* mostraron una mayor resistencia múltiple a cinco y cuatro antibióticos (Pintado, 2015). Los datos recopilados por el autor permiten afirmar que en los medios acuáticos de Piura se presenta la problemática de la resistencia bacteriana; y que se ven influenciados por el vertimiento de aguas cloacales de origen comunitario y por las malas prácticas de higiene que tienen los habitantes cuando recurren a estos lugares con el fin de darle un uso recreacional. Probablemente estos factores estén generando la introducción de antibióticos (residuos y metabolitos), bacterias resistentes o la transferencia de genes de resistencia, ocasionando una presión selectiva sobre las bacterias, y, finalmente una u otra manera estos medios se convierten en reservorios de genes de resistencia, y que la población adquirirá en caso visite estos lugares.

Según los resultados encontrados se puede evidenciar la presencia de enterobacterias productoras de AmpC y BLEE en muestras de orina de pacientes que acudieron al Hospital Universitario, siendo un motivo de preocupación la presencia de estas cepas resistentes. Esto indicaría que las personas pueden servir como un reservorio de genes de resistencia que se encuentran localizados en plásmidos altamente transmisibles. La propagación de genes entre bacterias de igual o diferentes especies disminuye las alternativas terapéuticas; además, se asocia con casi el doble de la mortalidad en comparación con las no productoras de betalactamasas (Colquechagua y Gonzales, 2014).

Las BLEE surgen principalmente debido a mutaciones en betalactamasas codificadas por los genes bla SHV, bla TEM, y bla CTX-M. Estas mutaciones puntuales alteran el centro activo de la enzima. Como resultado, se han identificado cerca de 300 variantes naturales de genes BLEE, tales como tipo TEM, tipo SHV, tipo CTX-M, tipo OXA y de otros tipos. Los genes de las enzimas BLEE son transmitidos por plásmidos y a menudo se encuentran en transposones e integrones, facilitando su movilización con otros mecanismos de resistencia. Los plásmidos que determinan las BLEE contienen, con frecuencia, otros genes de resistencia para distintos antimicrobianos, como aminoglucósidos, tetraciclinas y cotrimoxazol. Los genes que codifican las BLEE pueden ser fácilmente transferidos horizontalmente entre e intra especies, presentándose la transferencia más frecuente de los genes TEM, SHV y CTX-M entre otros (Cantón, Gónzales y Galán, 2012).

Las betalactamasas AmpC se codifican de manera intrínseca en el cromosoma bacteriano de algunas especies de enterobacterias, su síntesis es inducible en la mayoría de ellas y, bajo determinadas circunstancias, pueden hiperproducirse e hiperexpresarse. En otras especies, como *Escherichia coli* o *Shigella sp*, son intrínsecamente constitutivas y se expresan en bajo nivel de manera continua (Jacoby, 2009). Las frecuencias de betalactamasas AmpC fue de 2.16% (3/139), un nivel bajo en comparación de las betalactamasas de espectro extendido, una causa puede ser la expresión baja del gen AmpC.

La clasificación de las betalactamasas AmpC según localización y expresión del gen AmpC pueden ser; AmpC cromosómicas inducibles, que se producen a bajos niveles de manera natural y aumentan su síntesis en presencia de inductores (betalactámicos), son ejemplos de bacterias productoras: *Enterobacter spp.*, *M. morganii*, *Providencia spp.* *P. aeruginosa*, entre otras (Del Valle, 2009). En esta investigación no se encontró ninguna cepa de los géneros *Enterobacter* o *Citrobacter* productor de betalactamasas AmpC, solamente se halló en las especies de *Escherichia coli* y *Klebsiella pneumoniae*.

La transmisión de los microorganismos productores de betalactamasas de espectro extendido se produce fundamentalmente a través de las manos del personal sanitario y, en menor grado, por contaminación de superficies y material sanitario. Las medidas de control de la infección se basan principalmente en el aislamiento del contacto (Stürenburg y Mack, 2003). Si bien las cepas productoras de AmpC se aislaron en su mayoría de pacientes de hospitalización, no se puede decir lo mismo de las productoras de BLEE, pues éstas se aislaron en un 70% de pacientes de servicio ambulatorio, lo que significaría que estas personas son un reservorio de genes de resistencia, y si, no se aplican las medidas de prevención adecuadas, las bacterias podrían diseminarse de manera muy fácil entorno a la comunidad.

V- CONCLUSIONES

1. Se determinó que la frecuencia de enterobacterias productoras de betalactamasas AmpC y de espectro extendido aisladas en el Hospital Universitario de la Universidad Nacional de Piura, Perú, fue de 2.16% y 14.39 %, respectivamente.
2. *Klebsiella pneumoniae* fue la especie más frecuente de enterobacterias productora de betalactamasas tipo AmpC con un 1.74%, seguido de *Escherichia coli* con un 0.72%, en pacientes del Hospital Universitario de la Universidad Nacional de Piura, Perú.
3. Se determinó que *Escherichia coli* es la especie más frecuente productora de betalactamasas de espectro extendido con un 11.51%, seguida de un 2.88 % de cultivos de *Klebsiella pneumoniae*, en pacientes del Hospital Universitario de la Universidad Nacional de Piura, Perú.

VI- RECOMENDACIONES

- Al personal del sector salud, que en los laboratorios clínicos sobre todo del servicio de microbiología se realice una vigilancia permanente de la resistencia bacteriana frente a los antibióticos.
- A las autoridades de salud, brindar charlas de sensibilización a las personas sobre el uso de antibióticos.
- Al personal de sector salud, estudiantes, tesisistas e investigadores, realizar estudios detallados de la multirresistencia de la *Escherichia coli* y *Klebsiella pneumoniae* debido a que ambas bacterias son las de mayor frecuencia de aislamiento.
- A los estudiantes, tesisistas e investigadores; continuar con los estudios más profundos a las cepas obtenidas de enterobacterias productoras de AmpC y BLEE, como genéticos, por ejemplo.

VII- REFERENCIAS BIBLIOGRAFICAS

- ABANTO L. (2009). Producción de betalactamasas clásica y de espectro extendido por *Escherichia coli* aislada de urocultivos provenientes del centro de salud La Noria, La libertad. Tesis de pre grado. Universidad Nacional de Trujillo, Perú.
- ALEJOS I. (2017). Caracterización de la susceptibilidad a antibióticos betalactámicos de espectro extendido, ciprofloxacina y cotrimoxazol de cepas de *Escherichia coli* aisladas de zonas de amortiguamiento cercanas a crianza de *Argopecten purpuratus* (conchas de abanico) en seis puntos de la bahía de Sechura, Piura. Tesis para optar el título profesional de médico veterinario zootecnista. Lima, Perú.
- ALMIRANTE B. (2002). Infecciones por enterobacterias. Revista Medicine, 08 (64): 3385-97.
- APEIM (2017). Asociación peruana de empresas de investigación de mercados: Encuesta nacional 2017- Niveles socioeconómicos del Perú. Lima, Perú.
- ANANDKUMAR H., KAPUR I., Y DAYANAN A. (2003). Increased prevalence of antibiotic resistance and multi drug resistance among uropathogens. J CommunDis. 35: 102-108.
- AUSINA V. Y MORENO S. (2005). Tratado SEIMC de enfermedades infecciosas y microbiología clínica. Barcelona, España: Medica Panamericana.
- BERMÚDEZ M. (2006). Aislamiento de cepas *Escherichia coli* productoras de enzimas Beta-Lactamasas de Espectro Extendido en Pacientes Hospitalizados en el HDCQ. Dr. Salvador Allende en el periodo 2005 – 2006.
- BUSH K, JACOBY GA. (2009). Updated functional classification of beta-lactamases. Antimicrob Agents Chemother; 54(3):969-76.
- BRIONGOS L., GÓMEZ T., BACHILLER P., DOMÍNGUEZ M., GÓMEZ A., PALACIOS T. Y GONZÁLES M. (2012). Epidemiology, risk factors and comorbidity for urinary tract infections caused by Extended spectrum Betalactamase (Esbl)- Producing Enterobacteria. Int J Clin Pract; 66(9): 891–96

- CALDERÓN R, YAGUI M Y SACSQUISPE R. (2002). Manual de procedimientos para la prueba de sensibilidad antimicrobiana por el método de difusión disco. Lima: Instituto Nacional de Salud.
- CANTÓN R., GONZÁLEZ J. Y GALÁN J. (2012). CTX-M enzymes: origin and diffusion. *Frontiers in microbiology*. *Frontiers in Microbiology*. 110(3).
- CASELLAS J. (2011). Resistencia a los antibacterianos en América Latina: consecuencias para la infectología. *Rev. Panamericana. Salud Pública*; 30(6):519–28.
- CENTENO D., SALVATIERRA G. Y CALLE S. (2018). Detección de fenotipos de resistencia ACCSuT, BLEE y AmpC en Cepas de Salmonella entérica aisladas de infecciones en animales. *Rev InvVet Perú* 2018; 29(2): 580-587. Lima, Perú.
- CERCENADO E. Y CANTON R. (2011). Detección fenotípica de mecanismos de Resistencia en Gram negativas. *Procedimientos en microbiología clínica. Recomendaciones de la sociedad española de enfermedades infecciosas y microbiología clínica*.
- CLINICAL AND LABORATORY STANDARD INSTITUTE. (2013). Performance Standards for Antimicrobial Susceptibility Testing. Twenty-third Informational Supplement M100-S23. Wayne, Pennsylvania: Clinical and Laboratory Standard Institute.
- COLQUECHAGUA F. Y GONZALES E. (2014). “Enterobacterias productoras de Betalactamasas de espectro extendido en muestras fecales en el instituto nacional de salud del niño”. Lima – Perú.
- CORNEJO-JUÁREZ P, VELÁSQUEZ-ACOSTA C., SANDOVAL S., GORDILLO P., VOLKOW R. Y FERNÁNDEZ P. (2007). Patrones de resistencia bacteriana en urocultivos en un hospital oncológico. *Salud Pública México*. octubre de 2007;49(5):330-6.
- COYLE M. (2005). Manual de Pruebas de Susceptibilidad. Departments of Laboratory Medicine and Microbiology. University of Washington.

- CUELLAR L., VICENTE W. Y SILVA M. (2005). Cepas de *Escherichia coli* y *Klebsiella* spp. Productoras de Beta-Lactamasas en aislamientos clínicos de infecciones intrahospitalarias en un Hospital Oncológico, en Perú. XII Congreso de la Asociación Panamericana de Infectocología.
- DALELA G., GUPTA S., KUMAR D. Y MEHTAPUSHPA. (2012). Antibiotic Resistance Pattern in Uropathogens at a Tertiary Care Hospital at Jhalawar with special reference To ESBL, AmpC beta-Lactamase and MRSA Production. *Journal of Clinical and Diagnostic Research*. (Suppl-2), Vol-6(4): 645-651.
- DEL RÍO J., ALVAREZ R., BURITICA O., Y ESTRADA G. (2007). Producción bacteriana de Betalactamasas de Espectro Extendido en pacientes de la Unidad de cuidados intensivos del hospital de caldas. *Biosalud*; 6: 69-83.
- DEL VALLE D. (2009). Betalactamasas tipo AmpC: generalidades y métodos para detección fenotípica. Artículo de revisión. *Revista de la Sociedad Venezolana de Microbiología*; 29:78-83
- DESHPANDE L., JONES R., FRITSCH T Y SADER H. (2006). Occurrence of plasmidic AmpC type beta-lactamase-mediated resistance in *Escherichia coli*: report from the SENTRY Antimicrobial Surveillance Program (North America, 2004). *Int J Antimicrob Agents*; 28: 578-81.
- DIESTRA K., COQUE T., MIRÓ E., OTEO J., NICOLAU C., CAMPOS J., MOYA B., ET AL. (2008). Caracterización y epidemiología molecular de betalactamasas de espectro extendido en *Escherichia Coli* y *Klebsiella pneumoniae* En once hospitales españoles. *EnfermInfeccMicrobiolClin*.26(7): 404-10
- DÍAZ M., HERNÁNDEZ J., MATÍNEZ L., RODRÍGUEZ J. Y PASCUAL A. (2009). Grupo de estudios de Infección Hospitalaria. *Escherichia coli* y *Klebsiella pneumoniae* productoras de betalactamasas de espectro extendido en hospitales españoles: segundo estudio multicéntrico. *Enferm Infecc MicrobiolClin*; 27(9):503–10

- ECHEVARRÍA J. (2008). Estado actual de la resistencia bacteriana. Diagnóstico, 47(4),164-74.
Recuperado <http://www.fihu diagnostico.org.pe/revista/numeros/2008/oct-dic/164174.html>
- EDGAR C. Y GUADALUPE M. (2005). Enfermedades infecciosas y microbiología; Perdiendo la batalla: resistencia antimicrobiana en Enterobacterias productoras de betalactamasas de espectro extendido. 25:1.
- ESCALANTE J., SÍME A. Y DÍAZ C. (2013). Características clínicas y epidemiológicas en pacientes con infección intrahospitalaria por bacteriasproductoras de betalactamasas de espectro extendido. Revista Peruana de Epidemiología, vol. 17, núm. 1, abril-, 2013, pp. 01-06. Sociedad Peruana de Epidemiología. Lima, Perú.
- ERRECALDE J.O. (2004) Uso de antimicrobianos en animales de consumo. Roma. Dirección de informaciones de la FAO. ISBN 92-5-305150-7
- FALLA D. (2015). Características epidemiológicas, clínicas y etiológicas de la infección del tracto urinario en gestantes atendidas en el hospital regional es salud 111 - José Cayetano Heredia - Piura. Enero. 2010- diciembre 2014. Universidad Nacional de Piura. Piura, Perú.
- FARFÁN A., ARIZA S., VARGAS F. Y VARGAS L. (2016). Mecanismos de virulencia de Escherichia coli enteropatógena. Rev Chilena Infectol 2016; 33 (4): 438-450
- FERNÁNDEZ J. (2017). Frecuencia de enterobacterias productoras de betalactamasas de espectro ampliado aisladas de infecciones gastrointestinales y de vías urinarias en centros de salud de la ciudad de Piura – Perú. Tesis para optar el grado de maestro en ciencias con mención en microbiología clínica. Piura, Perú.
- FRINCH R. Y HUNTER P. (2006). Antibiotic resistance-action to promot new technologies: report of an EU intergovernmental conference held in Birmingham, Uk. December. J Antimicrobchemother.
- FORBES B., SAHM D. Y WEISSFELD A. (2007). Diagnostico Microbiologico (12 ed.). Argentina: Medica Panamericana.

- FUSTER C. (1999). Betalactamasas. Características y papel en la resistencia a los antibióticos. Hospital del Bierzo.
- GALINDO A. Y GUTIERREZ L. (2015). Prevalencia de Enterobacterias productoras de Beta-Lactamasas tipo BLEE y AmpC aisladas de pacientes con Infecciones del Tracto Urinario (ITUs). Hospital Provincial Docente Belén, Lambayeque Agosto 2014 – Febrero 2015. Tesis para optar título de biólogo. Universidad Pedro Ruiz Gallo. Lambayeque, Perú
- GARCÍA C., ASTOCONDOR L., BANDA C. (2012). Enterobacterias productoras de β -lactamasas de espectro extendido: Situación en América Latina y el Perú. Acta Med Per, 29(3), 163-169
- GARCÍA J., CANTÓN R. ET AL. (2000). Procedimientos en Microbiología Clínica. Recomendaciones de la Sociedad Española de Enfermedades Infecciosas y Microbiología Clínica.
- GÉRVAS J. (2000). La resistencia a los antibióticos un problema de salud pública, Atención Primaria. (2000); 25: 589-596 pp.
- GONZALES S. (2016). Frecuencia de *Escheria coli* productores de betalactamasas aislados de urocultivos de pacientes del hospital Víctor Lazarte Echegarary, Trujillo. Tesis de pregrado. Trujillo, Perú.
- HANSON N., MOLAND E., HONG S., PROPST K., NOVAK D., Y CAVALIERI S. (2008). Surveillance of community-based reservoirs reveals the presence of CTX-M, imported AmpC, and OXA-30 beta-lactamases in urine isolates of *Klebsiella pneumoniae* and *Escherichia coli* in a U.S. community. Antimicrob Agents Chemother; 52: 3814-6.
- HARRISON J. Y SVEC T. (1998). The beginning of the end of the antibiotic era?Part 1. The problem: abuse of the “miracle drugs”. Quintessence Int.; 29: 151-62 pp.
- HERNÁNDEZ J., ET AL.(2003), Extended-spectrum beta-lactamase-producing *Escherichia coli* and *Klebsiella pneumoniae* in spanish hospitals (GEIH-BLEE Project 2002). EnfermInfeccMicrobiolClin.. 21(2): p. 77-82.

- HOLT J., KRIEG P., SNEATH J., STALEY H., WILLIAMS M. Y BERGEY S. (1994). Manual of Determinative Bacteriology. 9th ed. Williams & Wilkins Company. Baltimore. (Ed). 787 pp.
- HUDDLESTON J. (2014). Horizontal gene transfer in the human gastrointestinal tract. Potential spread of antibiotic resistance genes. Infect drug resist.
- JARLIER V., NICOLAS M., FOURNIER G. Y PHILIPPON A. (1988). Extended broad-spectrum beta-lactamases conferring transferable resistance to newer beta-lactam agents in Enterobacteriaceae: hospital prevalence and susceptibility patterns. Rev Infect Dis. 10(4):867-78.
- JACOBY G. (2009). AmpC B-lactamase. Clinical Microbiology Reviews. 2009; 22(1):161-182
- JURE M., PRESTI C., CUDMANI C., GRELLET L., LOPEZ C., Y MUSA E. (2011). CMY2-type plasmid-mediated AmpC betalactamasas emerging in Tucuman, Argentina. Rev Argent Microbiol; 43: 24-7.
- KONEMAN E., ALLEN S., JANDE W., Y SCHRECKENBERGER P. (2008). Diagnóstico Microbiológico. 6ta Edición., Editorial Médica Panamericana S.A; pp: 205-209. Argentina.
- LEDERMANN D. (2006). La historia de la penicilina y de su fabricación en Chile. Rev Chil Infect, 23(2), 172-176.
- LEZAMETA L., GONZÁLES E. Y TAMARIZ J.. (2010). Comparación de cuatro métodos fenotípicos para la detección de beta-lactamasas de espectro extendido. Rev Peru Med Exp Salud Publica. 2010; 27(3): 345-51.
- LLENQUE L. Y ACEVEDO Y. (2012). Betalactamasas en cultivos de *escherichia coli* aislados de urocultivos, coprocultivos y de alimentos de la ciudad de Trujillo 2011. Revista Sciéndo 15(2): 1-12, 2012
- LÓPEZ J. Y ECHEVERRI L. (2010). *K. pneumoniae*: ¿la nueva “superbacteria”? Patogenicidad, epidemiología y mecanismos de resistencia. Revista IATREIA 23 (2)

- MAC FADDIN J. (2003). Pruebas bioquímicas para la identificación de bacterias de importancia clínica. Buenos aires. Edit medica panamericana. 301 p.
- MARTIN T, TORO I, DIAZ J, ET AL. (2002). Identificación de enterobacterias productoras de BLEE. XV congreso SAMPC.
- MENDOZA A. (2011). El formidable reto de la resistencia bacteriana a los antibióticos. Revista de la Facultad de Medicina de la UNAM, 54 (1), 18-27.
- MENDOZA, G. (2003). Serotipos de *Escherichia coli* en infecciones del tracto urinario y su relación con la producción de B-lactamasa clásica y B-lactamasa de espectro ampliado en pacientes del centro de salud II-Talara. Tesis de maestría para optar el Grado de Maestro en Ciencias. Universidad Nacional de Trujillo.
- MIRELIS B., RIVERA A., MIRÓ E., MESA R., NAVARRO F. Y COLL P. (2006). A simple phenotypic method for differentiation between acquired and chromosomal AmpC β -lactamases in *Escherichia coli*. *EnfermInfeccMicrobiolClin*. 2006; 24: 370-2
- MORALES J., REYES K., MONTEGHIRFO M., ROQUE M. Y IREY J. (2005). Presencia de β -lactamasas de espectro extendido en dos hospitales de Lima, Perú. *AnFacMed Lima*, 66(1), 24-32. ISSN 1025 – 5583.
- MORALES G., BOLAÑOS C., LARRAZÁBAL T. Y MENDOZA T. (2011). Enterobacterias aisladas de un centro Hospitalario de la ciudad de Valledupar y frecuencia de espectro extendido y betalactamasas inducibles. *Biociencias* 6(2):33 – 40.
- MOREJÓN M. (2012). Betalactamasas de espectro extendido. *Revista Cubana de Medicina*, 52(4), 272-280.
- MORENO K.. (2013). Carbapenémicos: tipos y mecanismos de resistencia bacterianos. *Revista Médica De Costa Rica Y Centroamerica LXX* (608) 599 - 605
- MODI SR., COLLINS J. Y RELMAN D. (2014). Antibiotics and the gut microbiota. *Jclin invest*.

- MORRIS A, KELLNER J, AND LOW D. (1998). The superbugs: evolution, dissemination and fitness. *Curr Op Microbiol*. 1998; 1: 524-9 pp.
- MULVEY M., BRYCE E., BOYD D., OFNER-AGOSTINI M., LAND AM., SIMOR AE., ET AL. (2005). Molecular characterization of cefoxitin-resistant *Escherichia coli* from Canadian hospitals. *Antimicrob Agents Chemother*; 49: 358-65
- NAVARRO M., ROBLES R., GARIBAY A., RUIZ E. (2011). *Escherichia coli* y *Klebsiella pneumoniae* comunitarias y hospitalarias productoras de beta-lactamasas en hospitales de Hermosillo. Mexico. *Sonora. salud pública de México*. v. 53, n° 4, p. 341-344.
- NAVARRO F., PEREZ-TRALLERO F., MARIMON J., ALIAGA R.; GOMARIZM. Y MIRELIS B. (2001). CMY-2- producing *Salmonella enterica*, *Klebsiella pneumoniae*, *Klebsiella oxytoca*, *Proteus mirabilis* and *Escherichia coli* strains isolated in Spain (October 1999-December 2000). *J Antimicrob Chemother*; 48: 383-389.
- NEREA O. (2015). Detección y bases genéticas de betalactamasas AmpC y carbapenemasas de aislados clínicos y comensales enterobacterias. Tesis doctoral. Rioja España.
- NUÑEZ A., MORALES C., RIVERA M. Y GONZÁLEZ A. (2006). Nuevos betalactámicos. *Medicrit*, 3(6), 132-135.
- PEROZO A. Y CASTELLANO M. (2009). Pruebas de susceptibilidad a los agentes antimicrobianos. Maracaibo: Monografía. Sociedad Venezolana de Microbiología capítulo Zulia.
- PINEDA M. (2012). Frecuencia de betalactamasas de espectro extendido y carbapenemasas en *Escherichia coli* y *Klebsiella sp*, aislada de urocultivos en hospitales de la ciudad, Trujillo. Tesis de pre grado. Trujillo, Perú.
- PINTADO C. (2015). Perfil de resistencia a once antibióticos de terapia médica evaluados en bacterias coliformes termotolerantes aisladas de medios acuáticos de Piura y Sechura. Tesis de Licenciatura. Universidad Nacional de Piura.

- PUERTA-GARCÍA, A., & MATEOS-RODRÍGUEZ, F. (2010). Enterobacterias. *Medicine*, 10(51), 3426-31.
- QUIZHPE, P., ENCALADA, L., SACOTO, A., ANDRADE, D., MUÑOZ, G., CALVO, D., Y OTROS. (2014). Uso apropiado de antibioticos y resistencia bacteriana. Cuenca, Ecuador: Facultad de Ciencias Médicas, Universidad de Cuenca.
- RADHOUANI H., SILVA N., POETA N., TORRES C., CORREA S. E IGREGAS G. (2014). potencial impact of antimicrobial resistance in wildlife, enviroment and human health. *From the microbiol.*
- RIVAS M., MILIWEBSKY E. Y DEZA N. (2007). Diagnóstico de caracterización de *E. coli* 0157 productor de toxina Shiga a partir de especímenes clínicos. Departamento de Bacteriología, Instituto Nacional de Enfermedades Infecciosas. Bogotá. Colombia
- RIVERA M., RODRÍGUEZ C., HUAYÁN G. Y MERCADO P. (2010). Susceptibilidad a betalactámicos y resistencia por betalactamasas de espectro extendido (BLEE) en Enterobacteriaceae aisladas de reservorios ambientales de un hospital general en Cajamarca, Perú. Estudio presentado en el Primer Encuentro Científico Internacional del Norte Invierno-2010. Cajamarca, Perú.
- ROCHA R., LOZANO P. Y MARTÍNEZ Y. (2005). Modelos de la patogénesis de las enfermedades infecciosas. Puebla- México. Benemérita Universidad Autónoma de Puebla. p.57. México.
- ROSSI F. Y ANDREAZZI D. (2006). Resistencia Bacteriana, Interpretando el Antibiograma. Brazil.
- RUIZ L., MARTÍNEZ S., GOMES C., PALMA N., RIVEROS M., OCAMPO M., DURAND D., OCHOA T., RUIZ J. Y PONS M. (2018). Presencia de enterobacteriaceae y *Escherichia coli* multirresistente a antimicrobianos en carne adquirida en mercados tradicionales en Lima. *RevPeruMedExp Salud Pública*. Lima, Perú.
- RYAN K. 2004. Urinary tract infections. In: Sherris J.C., Ryan K.J., Ray C.G. (eds) *Medical Microbiology: An Introduction to Infectious Diseases*. Fourth Edition. McGraw-Hill, USA, 867-871.

- SÁNCHEZ B. (2004). Betalactamasas de espectro extendido. RevElectr de Med Intensiva [Revista en Internet]. 2004 [Fecha de acceso: 11 de agosto de 2004];4(8):[13 pantallas].Disponible en: <http://remi.uninet.edu/2004/08/REMIC06.htm>
- SANDERS C. Y SANDERS W. (1979). Emergence of resistance to cefamandole: posible role of cefoxitin inducible betalactamases. Antimicrob Agents Chemother.1979; 15: 792-7.
- SERAL C., GUDEI J. Y CASTILLO J. (2012). Emergencia de β -lactamasas AmpC plasmídicas (pAmpC ó cefamicinasas): origen, importancia, detección y alternativas terapéuticas. Revista Española Quimioter. España.25(2):89-99
- SIMNER P., ZHANEL G., PITOUT J., TAILOR F., MCCRACKEN M., MULVEY M., ET AL. (2011). Prevalence and characterization of extended-spectrum beta-lactamase- and AmpC beta-lactamase- producing Escherichia coli: results of the CANWARD 2007-2009 study. Diagn Microbiol Infect Dis; 69: 326-34.
- STÜRENBURG E. y MACK D. (2003). Extended-spectrum β -lactamases: implications for the clinical microbiology laboratory, therapy, and infection control. J Infect; 47: 273-95.
- STRUTHERS J. Y WESTRAN R. (2005). Bacteriologia Clinica. Barcelona: Ed.Masson. 192 p.
- SUAREZ C. Y GUDIOL F. (1009). Beta-lactam antibiotics.EnferminfeccMicrobiolClin. 2009, 27(2):116 -29.
- VIGNOLI R. Y SEIJA V. (2008). Principales mecanismos de resistencia antibiótica: En: Universidad de la República. Temas de Bacteriología y Virología médica. 2ª Edición.pp.640-662. Disponible en: <http://www.higiene.edu.uy/cefa/>.
- VILLEGAS M., GUZMAN B., SIFUENTES O. Y ROSSI F. (2008). Increasing prevalence of extended-spectrum-betalactamase among Gram-negative bacilli in Latin America – 2008 update from the Study for Monitoring Antimicrobial Resistance Trends (SMART). Brazil. Braz J InfectDis. 2011, vol. 15, n° 1. P. 34-39.

ANEXOS

ANEXO 1: IMÁGENES DE LA DETECCIÓN DE BETALACTAMASAS AmpC MEDIANTE MÉTODOS FENOTÍPICOS

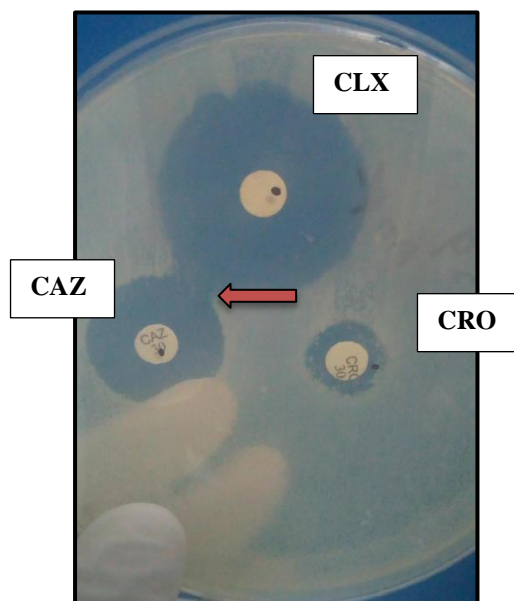


Figura 1- Cultivo POSITIVO para producción de betalactamasas AmpC.

CAZ, ceftazidima; CRO, ceftriaxona; CLX,

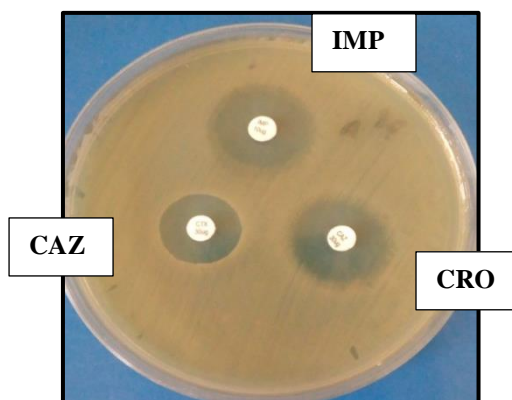


Figura 2- Cultivo NEGATIVO para producción de betalactamasas AmpC.

CAZ, ceftazidima; CRO, ceftriaxona; IMP, imipenem.

**ANEXO 2: IMÁGENES DE TEST DE TAMIZAJE PARA DETECCIÓN DE
BETALACTAMASAS DE ESPECTRO EXTENDIDO (BLEE)**

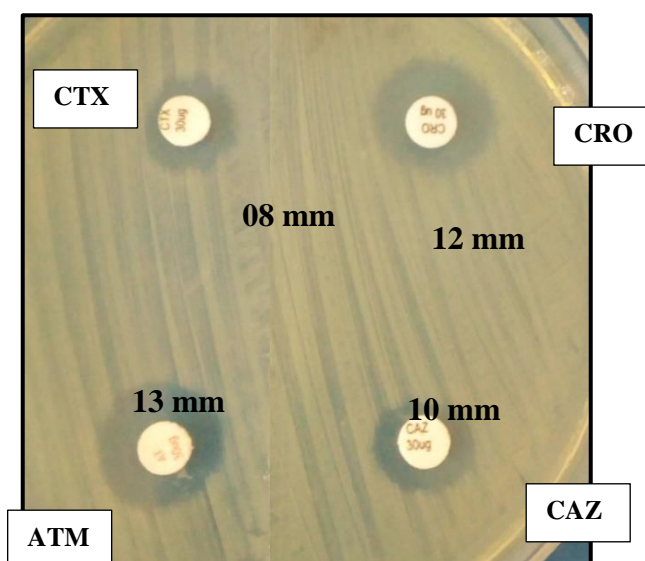


Figura 3- Test de tamizaje POSITIVO para detección BLEE
ATM, aztreonam; CAZ, ceftazidima; CTX, cefotaxima; CRO, ceftriaxona

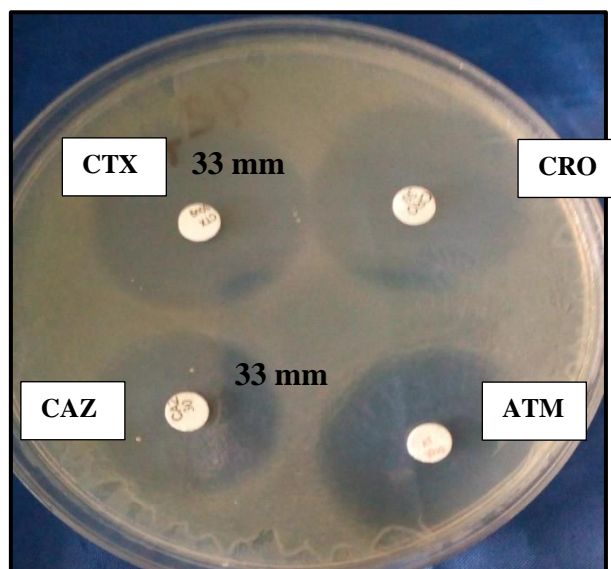


Figura 4- Test de tamizaje NEGATIVO para detección BLEE (B).
ATM, aztreonam; CAZ, ceftazidima; CTX, cefotaxima; CRO, ceftriaxona

ANEXO 3: IMÁGENES DE CONFIRMACIÓN DE FENOTIPO BLEE MEDIANTE MÉTODO DE JARLIER O SINERGIA DE DOBLE DISCO

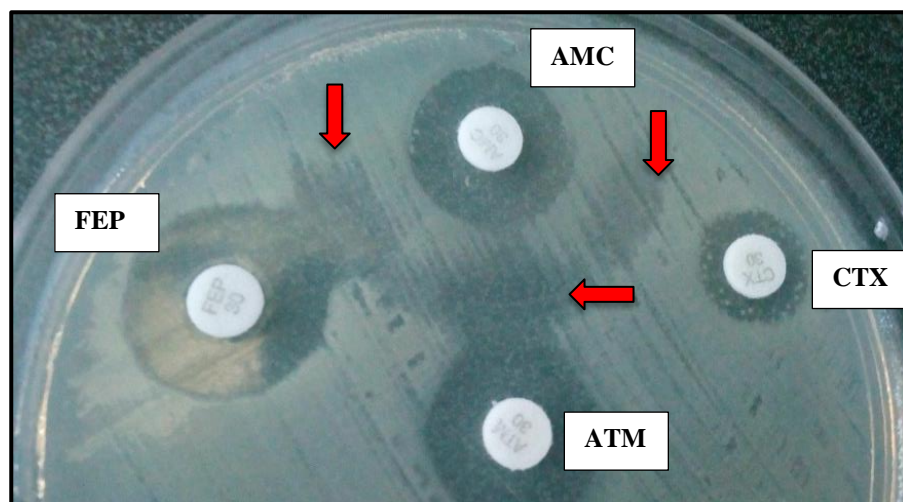


Figura 5- Cultivo POSITIVO para test de confirmación de betalactamasas de espectro extendido (BLEE). Se observa la sinergia positiva ATM, aztreonam; FEP, cefepime; CTX, cefotaxima; AMC, amoxicilina -ácido clavulánico.

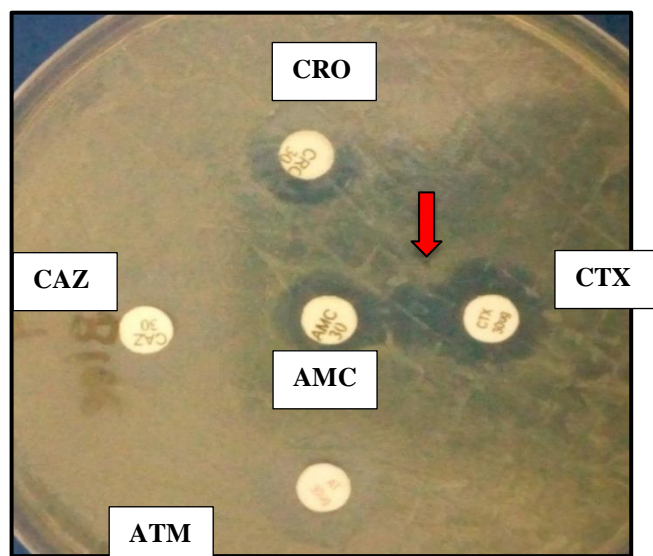


Figura 6- Cultivo POSITIVO para test de confirmación de betalactamasas de espectro extendido (BLEE). Se observa la sinergia positiva
ATM, aztreonam; CAZ, ceftazidima; CTX, cefotaxima; CRO, ceftriaxona; AMC, amoxicilina -ácido clavulánico

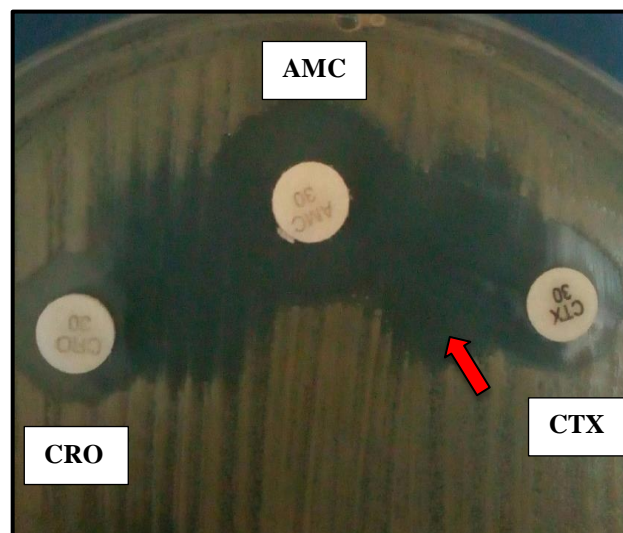


Figura 7- Cultivo POSITIVO para test de confirmación de betalactamasas de espectro extendido (BLEE). Se observa la sinergia positiva
CTX, cefotaxima; CRO, ceftriaxona; AMC, amoxicilina -ácido clavulánico.

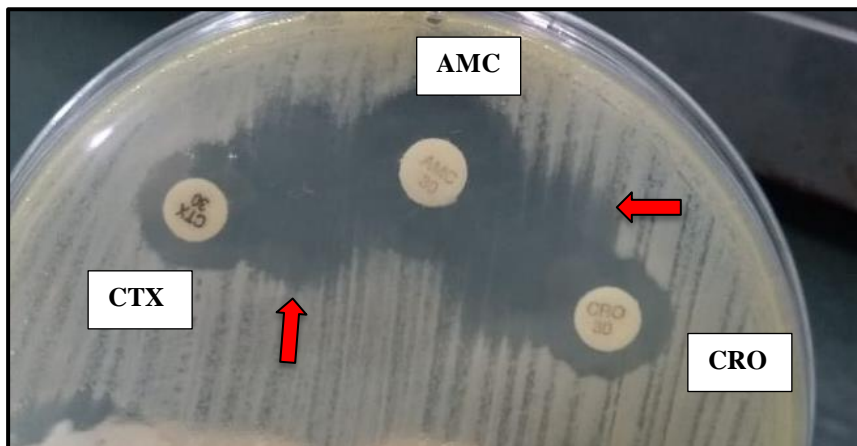


Figura 8- Cultivo POSITIVO para test de confirmación de betalactamasas de espectro extendido (BLEE). Se observa la sinergia positiva
CTX, cefotaxima; CRO, ceftriaxona; AMC, amoxicilina -ácido clavulánico.

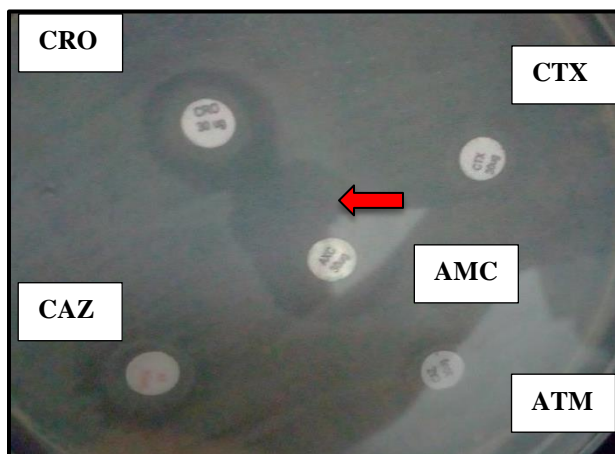


Figura 9- Cultivo POSITIVO para test de confirmación de betalactamasas de espectro extendido (BLEE). Se observa la sinergia positiva
ATM, aztreonam; CAZ, ceftazidima; CTX, cefotaxima; CRO, ceftriaxona; AMC, amoxicilina -ácido clavulánico

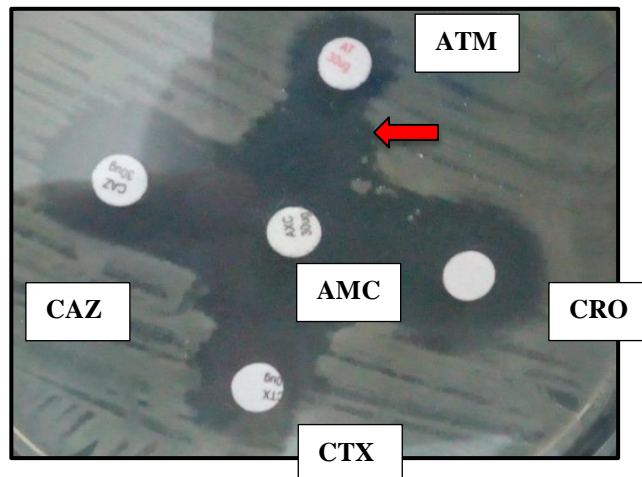


Figura 10- Cultivo POSITIVO para test de confirmación de betalactamasas de espectro extendido (BLEE). Se observa la sinergia positiva
ATM, aztreonam; CAZ, ceftazidima; CTX, cefotaxima; CRO, ceftriaxona; AMC, amoxicilina -ácido clavulánico

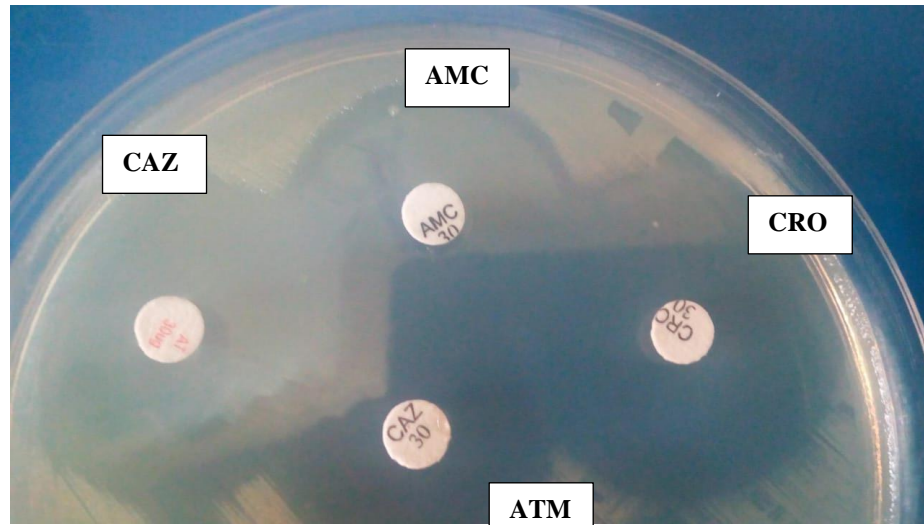


Figura 11- Cultivo NEGATIVO para producción de betalactamasas de espectro extendido BLEE.
ATM, aztreonam; CAZ, ceftazidima; CRO, ceftriaxona; AMC, amoxicilina -ácido clavulánico.

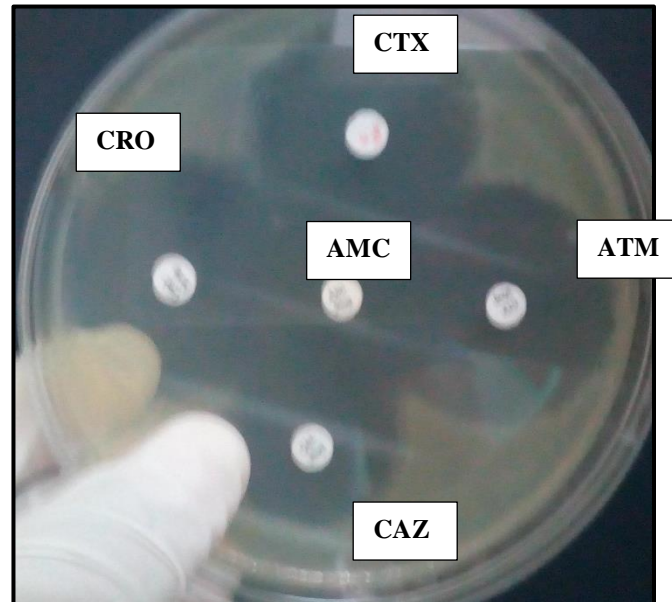


Figura 12- Cultivo NEGATIVO para producción de betalactamasas de espectro extendido BLEE.
ATM, aztreonam; CAZ, ceftazidima; CTX, cefotaxima; CRO, ceftriaxona; AMC, amoxicilina -ácido clavulánico.

ANEXO 4: RESULTADOS GENERALES DE LAS CEPAS EN ESTUDIO

Tabla. Frecuencia de especies de enterobacterias aisladas de pacientes en el Hospital Universitario, enero a junio de 2018

Especie aislada	Frecuencia	Porcentaje (%)
<i>E.coli</i>	101	72,7
<i>Klebsiella pneumoniae</i>	34	24,5
<i>Enterobacter sp.</i>	2	1,4
<i>Citrobacter freundii</i>	2	1,4
Total	139	100,0

Tabla. Frecuencia de enterobacterias de acuerdo al género y grupo etario de los pacientes del Hospital Universitario, enero a junio 2018.

EDAD	MUJERES		VARONES		%
	FRECUENCIA	%	FRECUENCIA	%	
0 – 20	23	16.55	1	0.71	17.26
21 – 40	56	40.29	2	1.44	41.73
41 – 60	23	16.55	2	1.44	17.99
61 – 80	19	13.67	6	4.32	17.99
81 A MÁS	05	3.59	2	1.44	5.03
TOTAL	126	90.65	13	9.35	100

ANEXO 5: CALCULO DE CHI-CUADRADO

Se utilizó la prueba chi-cuadrado, con el programa SPSS, con los resultados fueron los siguientes:

(Hipótesis probada: % Amp=3%)

	AmpC
Chi-cuadrado	,338 ^a
Gl	1
Sig. asintót.	,561

(Hipótesis probada: % BLEE=10%)

	Confirmación Blee
Chi-cuadrado	2,974 ^a
Gl	1
Sig. asintót.	,085

En ambos casos, los p-valor son mayores a 0.05, por lo tanto, desde el punto de vista de chi-cuadrado, los resultados no son significativos al nivel $\alpha=0.05$ ($p<0.05$).

ANEXO 6: ÁREA DE ESTUDIO



Figura 13-Hospital Universitario



Figura 14- Área de hospitalización



Figura 15- Área de emergencias

ANEXO 07: CEPAS, AISLAMIENTO E IDENTIFICACIÓN

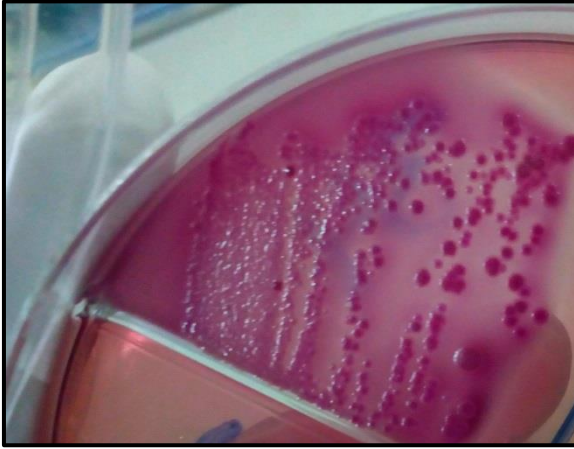


Figura 16- Cepas aisladas de *Escherichia coli*, en agar MacConkey

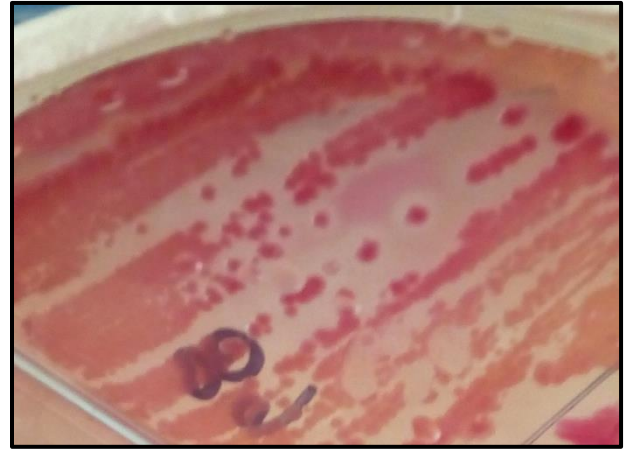


Figura 17- Cepas aisladas de *Klebsiella pneumoniae*, en agar MacConkey

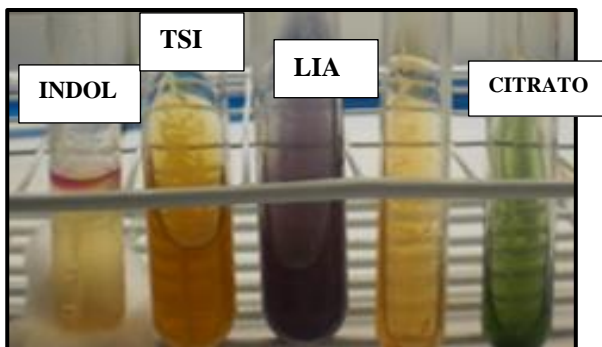


Figura 18- Identificación de *Escherichia coli*

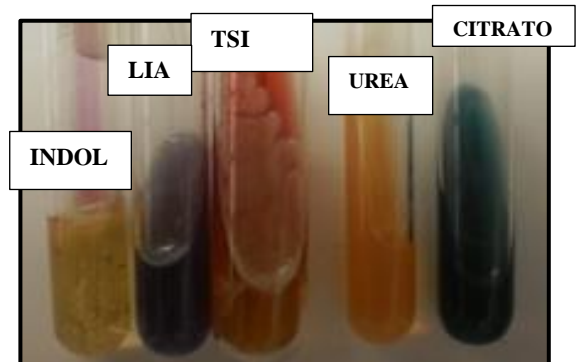


Figura 19- Identificación de *Klebsiella pneumoniae*

ANEXO 8: RECEPCION DE MUESTRAS Y PROCESO



Figura 20- Muestras de orina, para procesar urocultivos.



Figura 21- Material para preparación de medios de cultivo

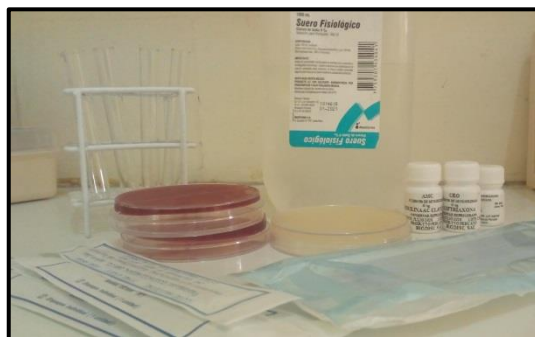


Figura 22- Materiales para la realización de un antibiograma



Figura 23- Discos de antibióticos utilizados para la realización de los métodos fenotípicos de detección de betalactamasas.



Figura 24- Incubadora a 37°C



Figura 25: Siembra de muestras y realización de antibiogramas

ANEXO 9: DATOS DE LAS CEPAS EN ESTUDIO

N°CEPA	SEXO	EDAD	PROCEDENCIA	BACTERIA
1	F	5	AMBULATORIO	<i>Escherichia coli</i>
2	F	42	AMBULATORIO	<i>Escherichia coli</i>
3	F	20	AMBULATORIO	<i>Escherichia coli</i>
4	F	21	AMBULATORIO	<i>Klebsiella pneumoniae</i>
5	F	41	AMBULATORIO	<i>Klebsiella pneumoniae</i>
6	F	45	AMBULATORIO	<i>Klebsiella pneumoniae</i>
7	F	88	HOSPITALIZADO	<i>Klebsiella pneumoniae</i>
8	F	65	AMBULATORIO	<i>Klebsiella pneumoniae</i>
9	F	23	AMBULATORIO	<i>Klebsiella pneumoniae</i>
10	F	20	AMBULATORIO	<i>Escherichia coli</i>
11	F	31	AMBULATORIO	<i>Klebsiella pneumoniae</i>
12	F	36	AMBULATORIO	<i>Escherichia coli</i>
13	F	44	AMBULATORIO	<i>Escherichia coli</i>
14	F	27	AMBULATORIO	<i>Klebsiella pneumoniae</i>
15	M	89	HOSPITALIZADO	<i>Escherichia coli</i>
16	F	22	AMBULATORIO	<i>Escherichia coli</i>
17	F	30	AMBULATORIO	<i>Escherichia coli</i>
18	F	27	AMBULATORIO	<i>Escherichia coli</i>
19	F	67	HOSPITALIZADO	<i>Escherichia coli</i>
20	F	80	AMBULATORIO	<i>Escherichia coli</i>
21	F	75	AMBULATORIO	<i>Klebsiella pneumoniae</i>
22	F	25	AMBULATORIO	<i>Escherichia coli</i>
23	F	29	AMBULATORIO	<i>Escherichia coli</i>
24	F	32	AMBULATORIO	<i>Klebsiella pneumoniae</i>
25	F	35	AMBULATORIO	<i>Escherichia coli</i>
26	F	71	AMBULATORIO	<i>Citrobacter freundii</i>
27	M	90	AMBULATORIO	<i>Klebsiella pneumoniae</i>
28	F	66	AMBULATORIO	<i>Escherichia coli</i>
29	F	31	HOSPITALIZADO	<i>Escherichia coli</i>
30	F	49	AMBULATORIO	<i>Klebsiella pneumoniae</i>
31	F	54	AMBULATORIO	<i>Escherichia coli</i>
32	F	35	AMBULATORIO	<i>Enterobactersp.</i>
33	F	29	AMBULATORIO	<i>Escherichia coli</i>
34	F	28	AMBULATORIO	<i>Escherichia coli</i>
35	F	19	EMERGENCIA	<i>Escherichia coli</i>
36	F	31	AMBULATORIO	<i>Escherichia coli</i>
37	F	88	AMBULATORIO	<i>Escherichia coli</i>
38	F	78	AMBULATORIO	<i>Escherichia coli</i>

39	F	76	AMBULATORIO	<i>Escherichia coli</i>
40	F	25	EMERGENCIA	<i>Escherichia coli</i>
41	F	29	AMBULATORIO	<i>Escherichia coli</i>
42	F	71	AMBULATORIO	<i>Klebsiella pneumoniae</i>
43	F	32	AMBULATORIO	<i>Escherichia coli</i>
44	F	47	AMBULATORIO	<i>Escherichia coli</i>
45	F	5	EMERGENCIA	<i>Klebsiella pneumoniae</i>
46	F	23	AMBULATORIO	<i>Escherichia coli</i>
47	F	9	AMBULATORIO	<i>Escherichia coli</i>
48	F	17	AMBULATORIO	<i>Escherichia coli</i>
49	F	40	AMBULATORIO	<i>Klebsiella pneumoniae</i>
50	F	80	AMBULATORIO	<i>Escherichia coli</i>
51	F	66	EMERGENCIA	<i>Klebsiella pneumoniae</i>
52	F	51	AMBULATORIO	<i>Escherichia coli</i>
53	F	55	AMBULATORIO	<i>Escherichia coli</i>
54	F	42	AMBULATORIO	<i>Klebsiella pneumoniae</i>
55	F	40	AMBULATORIO	<i>Escherichia coli</i>
56	F	23	EMERGENCIA	<i>Escherichia coli</i>
57	F	29	AMBULATORIO	<i>Klebsiella pneumoniae</i>
58	F	54	AMBULATORIO	<i>Escherichia coli</i>
59	F	38	AMBULATORIO	<i>Escherichia coli</i>
60	F	47	AMBULATORIO	<i>Escherichia coli</i>
61	F	51	HOSPITALIZADO	<i>Escherichia coli</i>
62	F	59	AMBULATORIO	<i>Escherichia coli</i>
63	F	71	AMBULATORIO	<i>Enterobactersp.</i>
64	F	24	AMBULATORIO	<i>Klebsiella pneumoniae</i>
65	F	68	HOSPITALIZADO	<i>Escherichia coli</i>
66	F	25	EMERGENCIA	<i>Escherichia coli</i>
67	M	61	AMBULATORIO	<i>Escherichia coli</i>
68	F	32	AMBULATORIO	<i>Escherichia coli</i>
69	M	52	AMBULATORIO	<i>Escherichia coli</i>
70	F	85	HOSPITALIZADO	<i>Escherichia coli</i>
71	F	35	AMBULATORIO	<i>Escherichia coli</i>
72	F	36	AMBULATORIO	<i>Escherichia coli</i>
73	F	85	AMBULATORIO	<i>Escherichia coli</i>
74	F	6	AMBULATORIO	<i>Escherichia coli</i>
75	F	26	AMBULATORIO	<i>Escherichia coli</i>
76	M	69	AMBULATORIO	<i>Escherichia coli</i>
77	F	75	EMERGENCIA	<i>Escherichia coli</i>
78	F	3	AMBULATORIO	<i>Escherichia coli</i>
79	F	36	AMBULATORIO	<i>Escherichia coli</i>

80	F	16	EMERGENCIA	<i>Escherichia coli</i>
81	F	26	AMBULATORIO	<i>Escherichia coli</i>
82	M	79	EMERGENCIA	<i>Escherichia coli</i>
83	F	28	AMBULATORIO	<i>Escherichia coli</i>
84	F	39	AMBULATORIO	<i>Escherichia coli</i>
85	F	38	EMERGENCIA	<i>Klebsiella pneumoniae</i>
86	F	40	AMBULATORIO	<i>Escherichia coli</i>
87	F	46	AMBULATORIO	<i>Escherichia coli</i>
88	M	66	AMBULATORIO	<i>Escherichia coli</i>
89	F	30	AMBULATORIO	<i>Klebsiella pneumoniae</i>
90	F	21	AMBULATORIO	<i>Escherichia coli</i>
91	F	50	EMERGENCIA	<i>Escherichia coli</i>
92	M	70	HOSPITALIZADO	<i>Escherichia coli</i>
93	F	20	AMBULATORIO	<i>Escherichia coli</i>
94	F	33	AMBULATORIO	<i>Escherichia coli</i>
95	F	25	AMBULATORIO	<i>Escherichia coli</i>
96	F	20	AMBULATORIO	<i>Klebsiella pneumoniae</i>
97	F	81	AMBULATORIO	<i>Escherichia coli</i>
98	F	70	EMERGENCIA	<i>Escherichia coli</i>
99	F	18	AMBULATORIO	<i>Klebsiella pneumoniae</i>
100	F	60	AMBULATORIO	<i>Escherichia coli</i>
101	F	65	EMERGENCIA	<i>Escherichia coli</i>
102	M	40	AMBULATORIO	<i>Escherichia coli</i>
103	F	47	AMBULATORIO	<i>Escherichia coli</i>
104	F	25	AMBULATORIO	<i>Escherichia coli</i>
105	F	25	HOSPITALIZADO	<i>Klebsiella pneumoniae</i>
106	F	23	AMBULATORIO	<i>Escherichia coli</i>
107	F	65	EMERGENCIA	<i>Escherichia coli</i>
108	F	41	AMBULATORIO	<i>Klebsiella pneumoniae</i>
109	F	50	AMBULATORIO	<i>Escherichia coli</i>
110	M	80	EMERGENCIA	<i>Escherichia coli</i>
111	F	63	HOSPITALIZADO	<i>Citrobacter freundii</i>
112	F	55	AMBULATORIO	<i>Escherichia coli</i>
113	F	40	AMBULATORIO	<i>Klebsiella pneumoniae</i>
114	F	10	AMBULATORIO	<i>Escherichia coli</i>
115	M	47	AMBULATORIO	<i>Escherichia coli</i>
116	M	33	AMBULATORIO	<i>Klebsiella pneumoniae</i>
117	F	43	EMERGENCIA	<i>Escherichia coli</i>
118	F	33	AMBULATORIO	<i>Klebsiella pneumoniae</i>
119	F	30	AMBULATORIO	<i>Escherichia coli</i>
120	F	80	AMBULATORIO	<i>Escherichia coli</i>

121	F	27	AMBULATORIO	<i>Escherichia coli</i>
122	F	20	AMBULATORIO	<i>Klebsiella pneumonie</i>
123	F	40	EMERGENCIA	<i>Escherichia coli</i>
124	F	19	AMBULATORIO	<i>Klebsiella pneumonie</i>
125	F	20	AMBULATORIO	<i>Escherichia coli</i>
126	F	20	EMERGENCIA	<i>Klebsiella pneumonie</i>
127	F	36	AMBULATORIO	<i>Escherichia coli</i>
128	F	30	AMBULATORIO	<i>Escherichia coli</i>
129	F	30	AMBULATORIO	<i>Escherichia coli</i>
130	F	25	EMERGENCIA	<i>Klebsiella pneumonie</i>
131	F	19	AMBULATORIO	<i>Escherichia coli</i>
132	F	16	AMBULATORIO	<i>Klebsiella pneumonie</i>
133	F	60	HOSPITALIZADO	<i>Klebsiella pneumonie</i>
134	M	19	EMERGENCIA	<i>Escherichia coli</i>
135	F	10	AMBULATORIO	<i>Escherichia coli</i>
136	F	15	AMBULATORIO	<i>Escherichia coli</i>
137	F	20	AMBULATORIO	<i>Escherichia coli</i>
138	F	23	AMBULATORIO	<i>Escherichia coli</i>
139	F	25	EMERGENCIA	<i>Escherichia coli</i>

**ANEXO 10: DIÁMETROS DE LOS HALOS DE INHIBICIÓN DEL TEST DE TAMIZAJE
PARA DETECCIÓN DE BLEE**

N° CEPA	AZTREONAM (ATM) ≤ 27 mm	CEFOTAXIMA (CTX) ≤ 27 mm	CEFTAZIDIMA (CAZ) ≤ 22 mm	CEFTRIAXONA (CRO) ≤ 25 mm	TAMIZAJE
1	32	33	26	33	NEGATIVO
2	33	33	33	33	NEGATIVO
3	10	13	10	15	POSITIVO
4	15	18	10	18	POSITIVO
5	30	30	30	30	NEGATIVO
6	30	30	30	30	NEGATIVO
7	13	12	18	16	POSITIVO
8	30	30	30	30	NEGATIVO
9	30	30	30	30	NEGATIVO
10	13	13	17	18	POSITIVO
11	31	31	30	30	NEGATIVO
12	31	33	30	31	NEGATIVO
13	30	30	30	28	NEGATIVO
14	26	30	27	35	POSITIVO
15	33	30	30	35	NEGATIVO
16	35	36	30	30	NEGATIVO
17	25	25	22	23	POSITIVO
18	30	30	30	30	NEGATIVO
19	10	10	18	12	POSITIVO
20	28	25	15	30	POSITIVO
21	12	15	13	11	POSITIVO
22	15	23	20	20	POSITIVO
23	33	29	31	30	NEGATIVO
24	30	30	31	30	NEGATIVO
25	33	33	33	33	NEGATIVO
26	12	30	30	33	POSITIVO
27	12	17	15	20	POSITIVO
28	30	30	30	30	NEGATIVO
29	17	25	27	20	POSITIVO
30	28	30	23	30	POSITIVO
31	30	30	30	30	NEGATIVO
32	10	10	0	0	POSITIVO
33	30	30	30	30	NEGATIVO
34	25	27	24	26	POSITIVO
35	35	34	30	34	NEGATIVO
36	17	8	12	13	POSITIVO

37	20	25	25	20	POSITIVO
38	31	30	28	30	NEGATIVO
39	25	35	22	35	POSITIVO
40	33	33	30	30	NEGATIVO
41	25	28	25	23	POSITIVO
42	15	22	23	25	POSITIVO
43	30	30	35	35	NEGATIVO
44	16	30	22	23	POSITIVO
45	32	33	26	33	NEGATIVO
46	18	14	22	24	POSITIVO
47	0	18	18	18	POSITIVO
48	18	20	18	25	POSITIVO
49	27	26	23	26	POSITIVO
50	27	32	24	30	NEGATIVO
51	30	30	30	28	NEGATIVO
52	25	25	25	20	POSITIVO
53	20	25	23	27	POSITIVO
54	20	23	25	28	POSITIVO
55	25	25	22	25	POSITIVO
56	11	15	17	14	POSITIVO
57	10	10	17	10	POSITIVO
58	7	12	12	16	POSITIVO
59	13	18	19	15	POSITIVO
60	9	0	15	0	POSITIVO
61	30	30	35	30	NEGATIVO
62	30	30	30	30	NEGATIVO
63	33	35	30	35	NEGATIVO
64	30	30	30	30	NEGATIVO
65	18	18	15	16	POSITIVO
66	30	30	30	30	NEGATIVO
67	28	33	30	35	NEGATIVO
68	34	34	33	31	NEGATIVO
69	30	28	25	35	NEGATIVO
70	33	33	30	30	NEGATIVO
71	28	31	24	30	NEGATIVO
72	26	29	27	28	NEGATIVO
73	18	17	19	0	POSITIVO
74	23	20	21	20	POSITIVO
75	15	13	18	20	POSITIVO
76	11	18	17	20	POSITIVO
77	28	30	28	28	NEGATIVO

78	25	11	18	20	POSITIVO
79	29	30	28	27	NEGATIVO
80	35	30	30	33	NEGATIVO
81	16	10	14	14	POSITIVO
82	16	16	8	20	POSITIVO
83	12	12	12	11	POSITIVO
84	30	33	31	29	NEGATIVO
85	17	10	10	12	POSITIVO
86	30	30	35	30	NEGATIVO
87	30	30	25	26	NEGATIVO
88	23	18	20	10	POSITIVO
89	31	31	25	26	NEGATIVO
90	35	32	30	28	NEGATIVO
91	29	33	25	28	NEGATIVO
92	33	30	28	33	NEGATIVO
93	36	30	31	30	NEGATIVO
94	13	15	18	15	POSITIVO
95	10	9	12	12	POSITIVO
96	31	28	29	31	NEGATIVO
97	18	28	21	16	POSITIVO
98	29	28	28	32	NEGATIVO
99	28	30	28	33	NEGATIVO
100	28	31	26	33	NEGATIVO
101	15	10	19	18	POSITIVO
102	20	23	18	20	POSITIVO
103	29	30	30	28	NEGATIVO
104	30	33	31	28	NEGATIVO
105	23	15	19	30	POSITIVO
106	31	33	33	28	NEGATIVO
107	33	30	33	30	NEGATIVO
108	33	30	30	30	NEGATIVO
109	33	33	26	31	NEGATIVO
110	31	31	28	32	NEGATIVO
111	30	31	28	33	NEGATIVO
112	32	32	30	33	NEGATIVO
113	33	28	30	33	NEGATIVO
114	30	30	31	32	NEGATIVO
115	31	33	33	33	NEGATIVO
116	29	21	24	26	POSITIVO
117	30	33	30	28	NEGATIVO
118	30	31	28	28	NEGATIVO

119	29	31	28	26	NEGATIVO
120	16	18	0	10	POSITIVO
121	19	25	20	21	POSITIVO
122	29	28	30	26	NEGATIVO
123	28	28	29	29	NEGATIVO
124	30	29	31	29	NEGATIVO
125	31	29	33	27	NEGATIVO
126	33	30	32	27	NEGATIVO
127	33	33	30	28	NEGATIVO
128	11	10	15	15	POSITIVO
129	30	33	28	30	NEGATIVO
130	29	31	28	28	NEGATIVO
131	30	30	29	31	NEGATIVO
132	31	30	30	32	NEGATIVO
133	30	23	20	26	POSITIVO
134	28	30	31	33	NEGATIVO
135	29	31	30	33	NEGATIVO
136	30	32	31	29	NEGATIVO
137	30	32	26	27	NEGATIVO
138	30	33	26	30	NEGATIVO
139	15	10	10	10	POSITIVO

ANEXO 11: CLASIFICACION DE LAS BETALACTAMASAS

Bush-Jacoby Grupo 2009	Clase molecular Ambler	Sustrato	Inhibidor		Enzima representativa
			AC	EDTA	
1	C	Cefalosporinas			ACT-1, CMY-2, FOX-1, MIR-1
1e	C	Cefalosporinas			GC1, CMY-37
2 ^a	A	Penicilinas	Si		PC1
2b	A	Penicilinas, cefalosporinas	Si		TEM-1, TEM-2, SHV-1
2be*	A	Cefalosporinas de espectro extendido, monobactámicos	Si		TEM-3, SHV-2, CTX-M-15, PER-1, VEB-1
2br	A	Penicilinas			TEM-30, SHV-10
2ber	A	Cefalosporinas de espectro extendido, monobactámicos			TEM-50
2c	A	Carbenicilina	Si		PSE-1, CARB-3
2ce	A	Carbenicilina	Si		RTG-4
2d	D	Cloxacilina			OXA-1, OXA-10
2de	D	Cefalosporinas de espectro extendido,			OXA-11, OXA-15
2df	D	Carbapenémicos			OXA-23, OXA-48
2e	A	Cefalosporinas de espectro extendido	Si		CepA
2f	A	Carbapenémicos			KPC-2, IMI-1, SME-1
3 ^a	B	Carbapenémicos		Si	IMP-1, VIM-1, SME-1
3b	B	Carbapenémicos		Si	L1, CAU-1, GOB-1, FEZ-1

Fuente: (Bush, Jacoby et al 2009)